

**Untersuchungen zum Pyruvatgehalt von Rohmilch
unter Berücksichtigung der Produktionshygiene
im Erzeugerbetrieb**

Georg Hartl

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl: Professor Dr. G. Terplan)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Untersuchungen zum Pyruvatgehalt von Rohmilch unter
Berücksichtigung der Produktionshygiene im Erzeugerbetrieb

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Georg Hartl

aus

München

München 1979

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich

Referent: Prof. Dr. G. Terplan

Korreferent: Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 27. Juli 1979



Meiner Mutter

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Literatur</u>	2
2.1. Einflüsse auf die bakteriologische Beschaffenheit von Rohmilch	2
2.1.1. Hygiene der Milchgewinnung	2
2.1.2. Lagerung der Milch	7
2.2. Methoden zur Ermittlung der bakteriologischen Be- schaffenheit von Anlieferungsmilch	10
2.2.1. Keimzählverfahren	10
2.2.2. Ermittlung der Stoffwechselaktivität	14
2.2.2.1. Reduktionsproben	14
2.2.2.2. Pyruvatgehalt	15
2.3. Erhebung des Eutergesundheitsstatus über den Zell- gehalt der Anlieferungsmilch	20
3. <u>Eigene Untersuchungen</u>	21
3.1. Zeitreihenuntersuchungen in Milchproduktionsbe- trieben zur Bestimmung von Pyruvatgehalt, Ge- samtkeimzahl und Anzahl somatischer Zellen in der Anlieferungsmilch	22
3.1.1. Material	22
3.1.2. Methodik	23
3.1.2.1. Pyruvatgehalt	23
3.1.2.2. Gesamtkeimzahl	23
3.1.2.3. Anzahl somatischer Zellen	24
3.1.2.3.1. Automatisierte Zählung im Auto-Analyzer-II-System	24
3.1.2.3.2. Teilautomatisierte Zählung im "Coulter-Counter"	25

	Seite
3.2. Erhebungen über den Einfluß der Melkhygiene auf den Pyruvatgehalt der Rohmilch	25
3.2.1. Material	25
3.2.2. Methodik	26
3.3. Untersuchungen über den Zusammenhang von Euter- gesundheitsstörungen und Pyruvatgehalt in Viertel- gemelksproben	27
3.3.1. Material	27
3.3.2. Methodik	28
3.4. Ergänzende Untersuchungen zum Vergleich des Py- ruvatgehaltes in Blut und Viertelgemelksproben	28
3.4.1. Material	28
3.4.2. Methodik	28
4. <u>Untersuchungsergebnisse</u>	29
4.1. Ergebnisse der Zeitreihenuntersuchungen	29
4.1.1. Pyruvatgehalt in Anlieferungsmilch	29
4.1.2. Anzahl somatischer Zellen und Pyruvatgehalt in Anlieferungsmilch	34
4.1.3. Gesamtkeimzahl und Pyruvatgehalt in Anlieferungs- milch	36
4.2. Pyruvatgehalt und Melkhygiene	38
4.2.1. Hygienesituation in zwölf Erzeugerbetrieben	38
4.2.2. Stufenkontrolle der Melkanlage	41
4.3. Pyruvatgehalt von Viertelgemelksproben und Euter- gesundheit	44
4.4. Ergebnisse der ergänzenden Untersuchungen zum Pyruvatgehalt in Blutserum und Viertelgemelks- proben	49
5. <u>Diskussion</u>	50
6. Zusammenfassung / Summary	62
7. Literaturverzeichnis	66

1. Einleitung

Im Rahmen der Bestrebungen, praktikable und aussagekräftige Methoden zur Beurteilung des mikrobiologischen Status von Anlieferungsmilch zu erarbeiten, wurde in den letzten Jahren die Bestimmung des Pyruvats, dem Salz der Brenztraubensäure, das im Mittelpunkt wesentlicher intermediärer Stoffwechselvorgänge steht, empfohlen. Gerade für gekühlte, evtl. sogar über mehrere Tage gelagerte Rohmilch soll der Pyruvatgehalt besonders geeignet sein, durch Mikroorganismen verursachte katabole Vorgänge und damit bedingte Wertminderungen der Anlieferungsmilch zu charakterisieren. Aufgrund der Löslichkeit des Pyruvats und der damit verbundenen gleichmäßigen Verteilung dieser Substanz in der Milch ergeben sich bezüglich der Probenahme zur Pyruvatbestimmung deutliche Vorteile gegenüber den bisher bekannten Methoden zur Gesamtkeimzahlbestimmung. Außerdem ist dieses Verfahren für die Automation besser geeignet und demzufolge zeitsparender und preisgünstiger durchzuführen. In jüngster Zeit wurde jedoch das Pyruvat wiederholt hinsichtlich seines Aussagewertes bei der Rohmilchqualitätsermittlung in Zweifel gezogen. Insbesondere stehen im Mittelpunkt dieser Kritik ungleichmäßige Pyruvatbildung der Mikroorganismen während verschiedener Lagerungszeiten der Rohmilch und häufige Diskrepanzen zwischen Pyruvatgehalt und Gesamtkeimzahl in der Anlieferungsmilch. Andererseits wird die Methode sehr energisch verfochten, da sie sich optimal in die Reihe der übrigen im Rahmen der Güte-VOen durchgeführten Untersuchungen einfügen würde. Deshalb ist trotz gewisser Verunsicherungen bei potentiellen Anwendern die Bereitschaft sehr groß, das Verfahren als Grundlage für die Bewertung der bakteriologischen Qualität bei der Gütebezahlung der Milch einzuführen.

In der vorliegenden Arbeit sollen die Voraussetzungen für die Anwendung dieser Methode zur Bewertung von Rohmilch näher geprüft werden. Dabei soll neben der Ermittlung des Pyruvatgehaltes der Rohmilch

in Milchproduktionsbetrieben mit unterschiedlichen personellen und technischen Voraussetzungen der Frage nachgegangen werden, welchen Einfluß spezielle Faktoren der Produktionshygiene im Erzeugerbetrieb auf den Pyruvatgehalt der Milch haben und inwieweit die Mastitissituation der Herde dabei Bedeutung hat.

2. Literatur

2.1. Einflüsse auf die bakteriologische Beschaffenheit von Rohmilch

Im Erzeugerbereich haben neben der Eutergesundheit der Milchtiere vor allem die Melkhygiene und die von der Milchgewinnung bis zur Aufnahme in den Tanksammelwagen vorherrschenden Lagerungsbedingungen einen entscheidenden Einfluß auf die Rohmilchqualität.

2.1.1. Hygiene der Milchgewinnung

In Tabelle 1 (KÄSTLI, 1963) ist der Grad der Beeinflussung durch die einzelnen Kontaminationsquellen in Richtzahlen dargestellt.

Tabelle 1: Einfluß der verschiedenen Kontaminationsquellen auf den Keimgehalt der Rohmilch (KÄSTLI, 1963)

Art der Kontamination:	Keimzahlen pro ml Milch
Euterinfektionen latent	300 - 4 000
Luftkeime (bei Handmelken)	100 - 1 500
Melkverunreinigungen	500 - 15 000
Euterinfektionen bei Mastitis	bis 25 000
Milchgeräte	bis 500 000

Dabei wird deutlich, daß die Kontamination der Milch durch Luftkeime mit 100 - 1500 sehr gering ist, wenngleich diese Keimzahlen unter den Bedingungen des Handmelkens ermittelt wurden. Auch beim

heute allgemein üblichen maschinellen Milchentzug kann die Stallluft einen Einfluß auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch ausüben (SCHÖNHERR, 1959). Wie Untersuchungen von DOBINSKY (1955) und KURZWEIL und BUSSE (1973) ergeben haben, spielt diese Kontaminationsquelle quantitativ eine sehr geringe Rolle, da die Keimanreicherung der Milch während des Milchentzuges selbst bei starkem Keimgehalt der Stallluft in der Größenordnung um 10 Keime/ml bzw. darunter liegt. Für die Zusammensetzung der Keimflora der Milch hingegen ist das Stallmilieu von erheblicher Bedeutung. So ist z.B. bei Verwendung von Silagefutter eine Verschlechterung der bakteriologischen Qualität der Milch hinsichtlich der Zahl der coliformen Keime und vor allem der anaeroben Sporenbildner festgestellt worden (RENNER, KANDLER und KIERMEIER, 1962b). Diese Keimarten setzen einerseits die Haltbarkeit der Milch deutlich herab, andererseits sind sie in der Hart- und Schnittkäseherstellung unerwünscht. Während die coliformen Keime jedoch durch die Pasteurisierung abgetötet werden, können die Dauerformen der anaeroben Sporenbildner, wie z.B. von *Cl. butyricum* und *Cl. tyrobutyricum*, diesen Prozeß überstehen und so - nach Angaben von DORNER (1955) bereits in einer Menge von etwa 12 Keimen/ml Milch - nach mehrwöchtiger Lagerung Veränderungen (Spätblähung) in den Erzeugnissen herbeiführen (SCHÖNHERR, 1967).

Auch aerobe Sporenbildner (*Bacillus*) stammen aus dem Stallmilieu, wie aus mikrobiologischen Analysen hervorgeht: So sind während der Weidezeit 10 bis 20 solcher Keime/ml Milch festzustellen, während bei Stallhaltung 100 bis 200/ml vorhanden sind (PETTE, 1961). Die Mehrzahl dieser Keime, die ebenfalls sehr häufig den Erhitzungsprozeß überleben, ist in der Milchwirtschaft bekannt als Ursache von Süßgerinnung, insbesondere von erhitzter und evaporierter Milch, meist begleitet von bitterem Geschmack (DEMETTER, 1967). *B. cereus* und *B. subtilis* sind zudem noch für Qualitätseinbußen bei Rahmbuttersorten verantwortlich zu machen (SCHÖNHERR, 1967); ersterer

auch für die Flockenbildung in der Rahmschicht von pasteurisierter Milch (LABOTS und GALESLOOT, 1959).

Der qualitative Einfluß des Stallmilieus wird auch in Untersuchungen von ANDREY und FRAZIER (1959) deutlich, die bei Stallhaltung in erster Linie die Spezies *Arthrobacter*, *Pseudomonas* und *Micrococcus* vorfanden, während bei Weidehaltung hauptsächlich *Flavobakterien*, *Arthrobacter* und *Alcaligenes* in der Milch nachgewiesen wurden.

Auffallend in Tabelle 1 ist auch, daß die Höhe der Keimzahl in starkem Maße von der Melkhygiene, insbesondere von ungenügend gereinigten und desinfizierten Melkgerätschaften bestimmt wird. So ist es einerseits bei sorgfältiger und vorschriftsmäßiger Reinigung und Desinfektion der Melkgeräte möglich, Keimzahlen unter 10 000/ml zu erzielen, während andererseits bei nachlässiger Behandlung der Geräte auch Keimzahlen von weit über 500 000 pro ml auftreten können (TERPLAN und WIESNER, 1971). Nach TERPLAN (1966) kann Milch, die vom Euter weg nur Keimzahlen im Bereich von 1000 Keimen pro ml enthält, wenige Augenblicke später, nachdem sie mit schlecht gereinigten und desinfizierten Melkgerätschaften in Berührung gekommen ist, schon mehrere Millionen Keime enthalten. Im Unterschied zum Handmelken kommt die Milch beim maschinellen Milchentzug mit sehr viel mehr Gerätschaftsoberflächen in Berührung, weshalb unter gleichen hygienischen Voraussetzungen im Melkmaschinenbetrieb mit einem stärkeren Kontaminationsgrad durch die Geräte gerechnet werden muß. Aus Untersuchungen von KRÜGER, ROEDER und HINRICHSEN (1953) und von RENNER, KANDLER und KIERMEIER (1962a) geht hervor, daß im Durchschnitt sowohl die Keimzahl als auch die Zahl der coliformen Keime der Milch beim Maschinenmelken höher ist als beim Melken mit der Hand.

Zusammenhänge zwischen der Oberflächenbeschaffenheit von Melkmaschinenschläuchen und der bakteriologischen Wertigkeit der Rohmilch wiesen KIERMEIER, HOFFMANN und RENNER (1968) nach, wobei

die Verwendung alter Schläuche und deren herabgesetzte Reinigungsfähigkeit als Ursache für erhöhte Keimzahlen ermittelt wurde.

TERPLAN, WIESNER und HESSE (1969) führten den reduzierten Entkeimungseffekt, wie er im Zusammenhang mit einer bestimmten Form der Schwimmerschleuse in Rohrmelkanlagen mit Spülautomatik auftrat, auf die Bildung von sogenannten Spülschatten zurück.

Nicht nur die Höhe der Gesamtkeimzahl, sondern auch die Zusammensetzung der Melkmaschinenflora - und damit der Rohmilch - wird durch Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen beeinflusst. In Tabelle 2 (MROZEK, 1969) sind diese Zusammenhänge ohne Einbeziehung des Kühleinflusses dargestellt.

Tabelle 2: Reinigungsarbeit und Milchqualität ohne Kühleinfluß (MROZEK, 1969)

Desinfektion	Reinigung		
	keine	schlecht	gut
keine	MSR	MfSR	mfsr
nicht selektiv	MSR	mfsr	(mfsr)
thermisch	Tfsr	Tfsr	(tf)
selektiv	mFsr	F	f

M, m = milchsäurebildende Mischflora

F, f = Fett- und Eiweiß spaltende Fäulnisflora

T, t = thermoresistente Flora, vorwiegend Sporenbildner

S, s = Säuerung der Milch

R, r = Verkürzung der Reduktasezeit

großer Buchstabe = starker Einfluß

kleiner Buchstabe = schwacher Einfluß

Buchstaben in Klammern = sehr schwacher Einfluß

Hervorzuheben ist hierbei die Anreicherung der thermoresistenten Flora aufgrund der Hitzedesinfektion, weil im allgemeinen in Milch-erzeugerbetrieben unzureichend heißes Wasser verwendet wird; ferner die weitgehende Inaktivierung der Desinfektionskraft - vor allem bei Aktivchlorverbindungen - durch Bindung bestimmter Wirkstoffmengen an Eiweißkörper, die infolge ungenügender Reinigung nicht entfernt worden sind.

Von erheblicher Bedeutung für die Effektivität ist auch die Art des Desinfektionsmittels. So weisen THOMAS et al. (1964) und MROZEK (1972 und 1975) einerseits auf den schwächeren Entkeimungseffekt von Desinfektionsmitteln auf der Basis von aktiviertem Sauerstoff oder Chlor gegenüber grampositiven Keimen, andererseits auf die selektierende Wirkung von quartären Ammoniumverbindungen zugunsten von gramnegativen Bakterien wie Pseudomonaden und coliformen Keimen hin. Auch aus Untersuchungen von KIELWEIN, JOHNE und GERLACH (1969) geht hervor, daß die keimabtötende Wirkung von quartären Ammoniumverbindungen auf verschiedene Pseudomonadenstämme schwächer ist als auf einen grampositiven Vergleichsstamm.

Das zum Nachspülen der gereinigten und desinfizierten Gerätschaften verwendete Wasser kann ebenfalls zu einer Kontamination der Melkanlagenoberflächen mit psychrotrophen Keimen beitragen (KUNDRAT, 1966; GRÜN, 1969). Diese Keime, die in den Spülwasserresten, z.B. in Rohrmelkanlagen, günstige Wachstumsbedingungen vorfinden, können sich in der Zwischenmelkzeit erheblich vermehren und somit in der frisch ermolkenen Milch eine starke mikrobielle Verunreinigung bewirken (TERPLAN, 1969).

Im Rahmen einer Untersuchung von FORSYTH (1962), der sich ebenfalls mit dem Vorkommen psychrotropher Bakterien in Herdensammelmilch befaßte, wurden die Melkanlagen und Sammelmilchtanks zufriedenstellend gereinigt und desinfiziert. Die Anzahl

psychrotropher Keime in der Milch bewegte sich zwischen 10 bis 10^3 /ml nach einer siebenstündigen Bebrütung bei 7°C , während in Milchen von zwei weiteren Farmen mit ungenügender Reinigung der Anlagen 10^3 bis 10^5 psychrotrophe Keime / ml gefunden wurden. Auch HARTLEY et al. (1968) weisen auf die Bedeutung einer hohen Anzahl psychrotropher bzw. thermoresistenter Keime als Indikator für eine mangelhafte Reinigung und Desinfektion der Melkanlage und Melkgerätschaften hin.

2.1.2. Lagerung der Milch

Die Beeinflussung der Rohmilcheigenschaften während der Lagerung wird - gründlich gereinigte und desinfizierte Sammelbehälter vorausgesetzt - im wesentlichen von Lagerungstemperatur und -zeit bestimmt. Entsprechend den sehr unterschiedlichen Eigenschaften der in Milch vorkommenden Keimarten haben diese beiden Faktoren auch sehr unterschiedliche Auswirkungen auf das Keimwachstum.

Wie in Tabelle 3 ersichtlich bewirkt die Kühlung der Milch - in Abhängigkeit von der Höhe des Anfangskeimgehaltes - grundsätzlich eine Hemmung des Bakterienwachstums.

Tabelle 3: Einfluß von Temperatur und Zeit auf die Keimzunahme während der Rohmilchlagerung (nach GÖTZE, 1959)

Zeit (h)	Aufbewahrungstemperatur					
	$5 - 6^{\circ}\text{C}$		$10 - 12^{\circ}\text{C}$		$18 - 20^{\circ}\text{C}$	
	a	b	a	b	a	b
0	1	1	1	1	1	1
3	0,9	1	0,6	0,9	0,7	1,8
5	0,5	1	0,8	1,7	1	5,3
8	0,6	1,2	1,9	2,2	5,6	11
12	1,4	1,9	2,4	9,2	56	36
24	1,6	2,3	9,3	166	567	331

Relative Keimzahl, bestimmt auf Chinablaumilchzuckeragar (48 h/37°C). Durchschnittlicher Anfangskeimgehalt Reihe a = 16 900, Reihe b = 505 000.

Auch BUSSE (1965) hat die Zusammenhänge zwischen den Keimzahlen und der Lagerungstemperatur in Abhängigkeit von der Zeit untersucht. Er stellt aber in seinen Versuchen, in denen er sowohl eine hygienisch einwandfreie als auch eine mit unsauberen Melkgeräten gewonnene Milch insgesamt 96 Stunden bebrütete, im zweiten Falle eine sehr viel schneller einsetzende Keimvermehrung fest. Die Ursache dafür ist, daß sich in den Milch-Wasserresten der ungenügend gereinigten Melkgerätschaften Bakterien an das Medium "Milch" anpassen und vermehren. Gelangen nun diese im aktiven Wachstum befindlichen Keime beim nächsten Melken in die Milch, so setzt die weitere Vermehrung ohne Verzögerung ein. Demgegenüber ist nach BECKER (1964) die Keimzunahme nicht adaptierter Keime in den ersten 48 Stunden relativ gering.

Bei Kühltemperaturen von 4°C ist die Keimvermehrung soweit herabgesetzt, daß bei sauber gewonnener Milch Lagerungszeiten bis zu 48 Stunden ohne Qualitätsverluste möglich sind (BECKER, 1964; BUSSE, 1965; BOCKELMANN, 1966). Die zwischen 8 und 10°C gekühlte Milch zeigt dagegen eine erheblich schnellere und intensivere Keimzunahme, weshalb bei diesen Temperaturen eine Aufbewahrungszeit von 15 Stunden nicht wesentlich überschritten werden sollte (BUSSE, 1965; SWARTLING, 1967).

Während ein kurzzeitiger Temperaturanstieg, wie er etwa bei Zugabe von frisch ermolkener Milch zu bereits gekühlter Sammelmilch auftritt, innerhalb von 48 Stunden keine wesentlichen Veränderungen bewirkt, führt eine geringgradige Erhöhung der Lagerungstemperatur zu einem deutlichen Anstieg des Keimzuwachses (MARTH und FRAZIER, 1957; BUSSE, 1965). Auf die nachteilige Beeinträchtigung der bakteriologischen Beschaffenheit von frisch gewonnener Rohmilch durch ein verzögertes Herunterkühlen haben MOURGES, VASSAL und AUCLAIR (1967) sowie STADHOUDERS (1968) hingewiesen.

Entsprechend den verschiedenen Minimal-, Optimal- und Maximalbereichen der Wachstumstemperaturen von Bakterien wird die Zusammensetzung der Keimflora ganz wesentlich von den Lagerungsbedingungen bestimmt. So hatten noch vor 15 Jahren den größten Anteil an der Ausgangsflora in frisch gewonnener Milch die Streptokokken, gefolgt von Mikrokokken und coliformen Keimen, während die Gattung *Pseudomonas* nur sehr selten anzutreffen war (BUSSE, 1965; ABO-ELNAGA, 1966). Bei den früher noch allgemein üblichen Lagerungstemperaturen von 15°C und darüber kam es dann zu starker Vermehrung von Milchsäurebakterien, wie *Streptococcus lactis* und *Streptococcus cremoris*, welche mit zunehmender Säurebildung das Wachstum einer gramnegativen Flora unterdrückten (ABO-ELNAGA, 1966; TOLLE et al., 1968). Bei den heute zumeist vorgeschriebenen Temperaturen von weniger als 10°C, teils sogar unter 5°C, werden die Wachstumsbedingungen der mesophilen Milchflora, die vorwiegend aus Milchsäurestreptokokken und coliformen Keimen besteht, stark eingeengt und es entsteht eine psychrotrophe, gramnegative Bakterienflora, die in ihrem Stoffwechsel durch Proteolyse und Lipolyse gekennzeichnet ist (BEYER, 1967). In gekühlter Rohmilch sind die Vertreter der Gattung *Pseudomonas* - bewegliche gramnegative, den coliformen Keimen sehr ähnliche Stäbchen - gegenüber anderen psychrotrophen Keimen wie *Achromobacter*, *Alcaligenes* und *Flavobacterium* vorherrschend (HIGGINBOTTOM, JONES und TAYLOR, 1964; BUSSE, 1965; KUNDRAT, 1966; BEYER, 1967). Daneben treten bei Temperaturen oberhalb von 5°C noch psychrotrophe Streptokokken und coliforme Keime auf (MILLER, 1966; PANES und THOMAS, 1968).

Psychrotrophe Bakterien können sich noch bei geringeren Temperaturen als 7°C vermehren und bestimmen somit primär die Haltbarkeit von gekühlter Rohmilch. Die in der frühen Wachstumsphase dieser Keime ablaufenden biochemischen Veränderungen führen bereits nach 48 Stunden zu einer nachteiligen Beeinflussung des Frischezustandes und des Geschmacks (BECKER, 1964; THOMAS, 1966).

Während sonst bei Keimzahlen zwischen 10 und $100 \times 10^6/\text{ml}$ mit einer meßbaren Beeinträchtigung des Nährwerts oder der Verarbeitbarkeit der Milch zu rechnen ist (KANDLER, 1964 III; BUSSE, 1971), treten speziell bei Pseudomonaden schon in Größenordnungen von 5×10^6 Keimen/ml Geruchs- und Geschmacksabweichungen auf (PUNCH, OLSON und THOMAS, 1965).

2.2. Methoden zur Ermittlung der bakteriologischen Beschaffenheit von Anlieferungsmilch

Zur Erfassung des mikrobiologischen Status der Anlieferungsmilch stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, die z. T. auf sehr unterschiedlichen Prinzipien beruhen: z. B. die verschiedenen Arten der Keimzählung, die Messung von Veränderungen des Redox-Potentials der Milch, der Nachweis von spezifischen Enzymen des bakteriellen Katabolismus oder von bakteriellen Stoffwechselprodukten. Von diesen Verfahren sei hier nur auf diejenigen näher eingegangen, die entweder bereits Eingang in die Praxis der Qualitätsbeurteilung von Rohmilch gefunden haben oder die zumindest aufgrund gewisser Vorzüge für eine solche Bestimmung zur Diskussion stehen.

2.2.1. Keimzählverfahren

Bei den direkten Keimzählverfahren wird in einem gefärbten Milchausstrich, dessen Anfertigung (Milchmenge, Fläche des Ausstriches) genau definiert ist, mit einem Mikroskop bei bekannter Gesichtsfeldgröße die Keimzahl pro Flächeneinheit ausgezählt. Die Auswertung kann entweder durch Erfassen von Einzelkeimen oder von Keimgruppen erfolgen. Der Vorteil dieser Verfahren besteht in der schnellen Durchführbarkeit. Trotzdem kommt es für Routineuntersuchungen kaum in Betracht, da einerseits die Methode - insbesondere bei niedrigem Keimgehalt - recht ungenau ist, andererseits bedingt durch die hohen Anforderungen an die Sehkraft des Untersuchers nur eine sehr begrenzte Probenzahl von einer Person bewältigt werden kann (ZAADHOF und TERPLAN, 1973).

Von den indirekten Keimzählverfahren, die mit der Erfassung der Anzahl koloniebildender Einheiten hinsichtlich der Keimaktivität aussagekräftiger als die mikroskopischen Verfahren sind, erweist sich das Koch'sche Plattenverfahren in seiner herkömmlichen Form (IDF-Standard, 1958) als sehr zeit- und materialaufwendig. Sofern einzelne Arbeitsgänge automatisiert werden, kann es zu Reihenuntersuchungen herangezogen werden. So wird in der erstmals von THOMPSON, DONNELLY und BLACK (1960) beschriebenen, von LIMMER und WÖBBEKE (1972a) weiter veränderten, modifizierten Ösen-Plattenmethode das Beschicken der Petrischalen mit der Milchverdünnung unter Verwendung einer Cornwallspritze mit Platinöse erheblich vereinfacht. Für den Verzicht auf eine Verdünnungsreihe muß allerdings bei Keimzahlen oberhalb einer Million/ml ein Überfüllungsfehler in Kauf genommen werden, der eine ausreichende Erfassungsgenauigkeit in höher liegenden Keimzahlbereichen nicht mehr garantiert. Das gleiche gilt aufgrund der Untersuchungen von ZAADHOF und TERPLAN (1971) auch für die elektronische Mikrokoloniezählung nach TOLLE, ZEIDLER und HEE-SCHEN (1968). Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß die in der Milch befindlichen Keime unter definierten Wachstumsbedingungen unterhalb der Oberfläche eines festen Nährbodens sich zu Mikrokolonien von begrenztem Volumen entwickeln, die nach Fixation und Verflüssigung des Nährmediums als geschlossene Partikel nach dem Coulterprinzip gezählt werden.

Bei der optischen Mikrokoloniezählung wird die Auszählung der mit Milch-Gelatineverdünnung beschickten Petrischalen mit dem Stereomikroskop durchgeführt. Dieses Verfahren ist gleichfalls nach Empfehlungen der BUNDESANSTALT FÜR MILCHFORSCHUNG (1969) nur für Milchproben mit weniger als einer Million Keime/ml geeignet.

Eine weitere Vereinfachung und Verbesserung des Koch'schen Plattenverfahrens wurde auch mit der Einführung der Computer-Bild-

Analyse erzielt (WERNERY, 1972; ZAADHOF und TERPLAN, 1973). Dabei wird mit einem Epidiaskop von einer bebrüteten Keimzahlplatte ein Bild entworfen, das über eine Kamera einem Bildabtaster vermittelt wird, der es in 200 000 Einzelbildpunkte zerlegt. In einem Detektor werden die Objektmerkmale entsprechend ihren Grautönen getrennt und als Signale über einen Kompensator an einen Rechner weitergeleitet. Dieser zählt die Teilchen entsprechend den eingestellten Größenordnungen. Im Petrifoss-Biomatic-System ist die Methode der Computer-Bild-Analyse mit dem Prinzip des THOMPSON-Ösenverfahrens zu einer vollautomatisch arbeitenden Kompaktanlage vereinigt, deren Keimzählergebnisse mit denen des Koch'schen Plattengußverfahrens vergleichbar sind (STAHLHUT-KLIPP, 1977).

Eine enorm zeit- und materialsparende Form des Plattengußverfahrens ist die von SHARPE und KILSBY entwickelte Droplet Technique (SHARPE, 1973). Abweichend vom Koch'schen Plattengußverfahren wird hierbei eine bestimmte Probenmenge in den flüssigen Nähragar verbracht, in dem auch die entsprechenden Verdünnungsstufen hergestellt werden. Von jeder Verdünnungsstufe werden fünf Tropfen (je 0,1 ml) auf eine Petrischale pipettiert. Nach Inkubation von ca. 24 Stunden wird die Zahl der Kolonien unter schwacher Vergrößerung ausgezählt, wobei Bakterienkonzentrationen von weniger als 1000 Keimen pro ml nicht mehr erfaßt werden. Durch Automation einzelner Arbeitsgänge kann dieses Verfahren noch erheblich vereinfacht werden (z.B. Ansetzen der Verdünnungsstufen, Beschicken der Petrischalen).

Von den verschiedenen Oberflächenverfahren, bei denen die Milch bzw. die Milchverdünnung nicht wie beim Gußplattenverfahren mit dem flüssigen Nährmedium vermischt, sondern auf einem festen Nährboden aufgetragen wird, sei nur die Spiralplattenzählmethode (DONNELLY et al., 1976) erwähnt. Dabei wird eine definierte Probenmenge längs einer Spiralspur mit einer von der Mitte zum Rand hin abnehmenden Keimdichte auf eine sich drehende Nähragarplatte

aufgetragen. Die Auszählung der bebrüteten Platte wird entweder in einem elektronischen Zählgerät mit Spezialgitter, das die Plattenoberfläche in 32 Zählfelder von bekannter Größe zerlegt, oder in einem Laser-Elektronic-Zähler durchgeführt. Die Vorteile dieser teilautomatisierten Methode gegenüber dem Standardverfahren liegen in dem Wegfall von Verdünnungsstufen und in der besseren Reproduzierbarkeit der Zählergebnisse.

Der Vollständigkeit halber soll noch eine abgewandelte Form der IDF-Methode zur Gesamtkeimzahlbestimmung erwähnt werden, bei der über die Messung der Cytochromoxydase-Aktivität selektiv die psychrotrophen Keimarten, insbesondere die milchwirtschaftlich bedeutsamen Pseudomonaden, mit einem vertretbaren Zeitaufwand erfaßt werden (HANKING und DILLMAN, 1968). Mit der Lactocult-Methode (ANTILA und KYLÄ-SIUIOLA, 1976) kann - im Gegensatz zu den konventionellen Standardmethoden bei einer Bebrütungsdauer zwischen 5 und 8 Tagen - die Zahl der psychrotrophen Keime innerhalb eines Zeitraumes von 18 bis 24 Stunden bestimmt werden.

Obwohl mit den genannten mehr oder weniger automatisierbaren Methoden der Keimzählung Massenuntersuchungen mit praktisch ausreichender Genauigkeit durchgeführt werden können, stehen ihrer Einführung in die Gütebezahlung von Anlieferungsmilch zwei Tatsachen entgegen: die bisher ungelöste Problematik bezüglich der Probeentnahme sowie der optimalen Konservierung. Beim Einsatz von Probeentnahmeautomaten ergeben sich für die Entnahme repräsentativer und unverfälschter Proben noch gewisse Schwierigkeiten, die auf die inhomogene Verteilung der Keime in aufgerahmter, ungerührter Rohmilch (Repräsentativitätsfehler) sowie auf die Tatsache, daß unvermeidbar Reste der jeweils vorausgegangenen Milch im milchberührten System verbleiben (Verschleppungsfehler), zurückzuführen sind (REUTER und MEIER, 1978). Welche Ausmaße der Repräsentativitätsfehler haben kann, zeigt ein Versuch von HEESCHEN, SUHREN und TOLLE (1977b), bei dem unter Praxisbedingungen Dop-

pelproben u. a. für die Keimzahlbestimmung gezogen wurden. Dabei wurde zwischen den Proben ein Variationskoeffizient von 42,6 % errechnet. Der durch Verschleppung entstehende Fehler hat jedoch weit größere Auswirkungen und kann unter ungünstigen Voraussetzungen die Keimzahl der Probe um mehr als 100 % verfälschen (N.N., 1978). Diese beiden gerätebedingten Fehler können allerdings durch Umrüsten auf neue, bereits im Handel befindliche Probeentnahmeautomaten auf ein erträgliches Maß reduziert werden (REUTER und MEIER, 1978; N.N., 1978).

Die zur Vermeidung von Probenstaus notwendige Konservierung der Proben für einen Zeitraum von mehreren Tagen stellt darüber hinaus ein noch ungelöstes Problem dar (HEESCHEN, SUHRE N und TOLLE, 1977b; BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG, 1978), weil die diesbezüglich bekannten Präparate auf Borsäurebasis lediglich zur Erhaltung des bakteriologischen Status der Milch für längstens 48 Stunden ausreichen.

2.2.2. Ermittlung der Stoffwechselaktivität

2.2.2.1. Reduktionsproben

Bei den Reduktionsproben werden der Milch Redoxindikatoren zugesetzt, meistens Methylenblau oder Resazurin, wobei aus der Schnelligkeit der Farbstoffverminderung auf die Keimzahl der Milch geschlossen wird (DEMETER, 1967). Die durch veränderte Produktionsbedingungen hervorgerufene Verschiebung der Florazusammensetzung von vorwiegend stark reduzierenden Milchsäurebakterien in Richtung proteo- und lipolytischer, psychrotropher Mikroorganismen mit einem meist niedrigen spezifischen Reduktionsvermögen hat allerdings die Aussagekraft dieser Verfahren erheblich eingeschränkt (HORNBOGEN, 1963; BUSSE, 1966; TOLLE, ZEIDLER und HEESCHEN, 1966; BEYER, 1967). Als weitere Ursachen für die häufigen Fehlbeurteilungen durch diese Proben werden u. a. die herabgesetzte Stoffwechselaktivität der Bakterien und der erhöhte

Sauerstoffgehalt in gekühlter Milch sowie Einflüsse durch milcheigene Enzyme, bakterielle Stoffwechselprodukte, hohe Leukozytengehalte und Licht genannt (TEWES, 1952; RENNER, 1968; LIMMER und WÖBBECKE, 1972b; ZAADHOF und TERPLAN, 1973). Die Tatsache, daß im Jahre 1977 mit der Resazurinprobe 80,5 % und mit der Methylenblau-Reduktaseprobe 78,15 % der Anlieferungsmilchproben in die Güteklasse 1 eingestuft wurden und nur 6,85 % bzw. 2,68 % in die Güteklasse 3 fielen (HACKENSCHMIED, 1978), stellt den Wert dieser Verfahren für die Verbesserung der Rohmilchqualität beträchtlich in Frage. Es besteht heute auch allgemein Übereinstimmung darüber, daß die Reduktionsproben, die nach wie vor in den meisten Bundesländern als Grundlage für die Qualitätsbeurteilung von Anlieferungsmilch dienen, durch andere Verfahren, wie z.B. die Keimzahlbestimmung in ihren verschiedenen Modifikationen, oder durch neue Verfahren, wie z.B. die Pyruvatmessung abgelöst werden sollen (STAHLHUT-KLIPP, 1977; HEESCHEN, SUHREN und TOLLE, 1977b; HACKENSCHMIED, 1978; BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG, 1978).

2.2.2.2. Pyruvatgehalt

Der Pyruvatgehalt als Ausdruck wesentlicher, bakterieller Aktivitäten wurde erstmals von TOLLE et al. (1972) zur Beurteilung der bakteriologisch-hygienischen Beschaffenheit von gekühlter Milch vorgeschlagen. Pyruvat ist das Salz der Brenztraubensäure und steht als zentrale Substanz des bakteriellen Katabolismus am Beginn des Zitronensäurezyklus, in den letztlich alle Stoffwechselwege einmünden (TOLLE, 1973). Das Pyruvat erscheint als Desaminierungsprodukt des Eiweißabbaus und als Endprodukt des Kohlehydratabbaus über drei verschiedene Stoffwechselwege:

1. Fructose-1,6,-diphosphat-Weg(FDP-Weg), wie er vor allem bei den homofermentativen Milchsäurebildnern erfolgt;

2. Pentose-Phosphat-Weg(PP-Weg), der die heterofermentativen Milchsäurebildner betrifft und
3. 2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconsäure-Weg(KDPG-Weg), der in erster Linie bei den Pseudomonaden festzustellen ist (SCHLEGEL, 1972; TOLLE et al., 1972).

Auch das beim Fettabbau entstehende Glycerin wird nach Phosphorylierung auf dem Fructose-1, 6. -diphosphat-Weg weiter zu Brenztraubensäure abgebaut (KARLSON, 1967).

Nach einer Modellvorstellung von TOLLE et al. (1972) stehen Bakterienzelle und das umgebende Medium im Stoffwechsel in enger Beziehung und stellen ein offenes System dar. Da zwischen beiden ein ständiges Fließgleichgewicht herrscht, kann das in der Zelle gebildete Pyruvat sich so lange extrazellulär in der Milch anhäufen, wie hier die erforderliche Enzymfolge für eine weitere Verstoffwechselung fehlt. Somit kann Pyruvat quantitativ in Milch erfaßt werden.

Ausgehend von diesen theoretischen Grundlagen und auf Grund der präzisen und schnell durchführbaren Analytik erscheint die Pyruvatmessung bei einem relativ geringen Kostenaufwand als besonders geeignet, die bakteriologische Beschaffenheit von Milch vor allem unter psychrotrophen Bedingungen umfassend zu beschreiben (TOLLE, 1973; SUHRE N, HEESCHEN und TOLLE, 1976; HEESCHEN, SUHREN und TOLLE, 1977a; SUHREN, HEESCHEN und TOLLE, 1978). Da Pyruvat in Milch in gelöster Form vorliegt, ist die Probenahme im Gegensatz zu derjenigen für die Gesamtkeimzahlbestimmung einfach durchzuführen und ohne weiteres automatisierbar (HEESCHEN, SUHREN und TOLLE, 1977b). Die Konservierung des Pyruvatpools ist neben anderen Fixationsmöglichkeiten mit Trichloressigsäure bzw. Perchlorsäure bis zu sechs Tagen möglich (HEESCHEN, SUHREN und TOLLE, 1977a). Mit einer einmaligen Pyruvatbestimmung könne der momentane bakteriell-katabole Status der Rohmilch mit ausreichender Genauigkeit erfaßt werden, da der Anstieg von Pyru-

vat oberhalb eines "sekretorischen Basiswertes" von 0,5 ppm ausschließlich auf bakterielle Stoffwechselvorgänge zurückzuführen sei. Da Pyruvat durch die Pasteurisierung nicht beeinflusst wird, ermöglichte es einen zusammenhängenden Überblick über die bakteriologisch-hygienische Wertigkeit der Milch auf dem Weg vom Erzeuger bis zum Verbraucher. So kann durch eine zweimalige Pyruvatmessung (Pyruvatdifferenzwert), vor und nach einer Inkubation, eine Aussage über die bereits eingetretene bakteriell bedingte Wertminderung und damit über das Verderbnisrisiko bzw. die Haltbarkeit der pasteurisierten Milch getroffen werden. Ein unmittelbarer Vergleich zwischen Gesamtkeimzahl und Pyruvatkonzentration sei allerdings nur bedingt möglich, da es sich um zwei verschiedene biologische Größen handelt: die morphologische Einheit einerseits und die Stoffwechselleistung andererseits, die nicht nur von der Höhe der Keimzahl, sondern auch von der Keimart und deren Adaptation an das vorhandene Milieu abhängt. Speziell bei Koloniezählverfahren kann auch im Einzelfall nicht entschieden werden, aus wieviel Mikroorganismen eine Kolonie entstanden ist, während bei der Pyruvatbestimmung immer die Aktivität einzelner Bakterien erfaßt wird (TOLLE et al., 1972; HEESCHEN et al., 1972a; TOLLE, 1973; HEESCHEN et al., 1974; SUHREN, HEESCHEN und TOLLE, 1975; HEESCHEN, SUHREN und TOLLE, 1977b; SUHREN, HEESCHEN und TOLLE, 1978). Zwischen den Parametern Pyruvat und Gesamtkeimzahl bestehen vor allem in gut gekühlter Milch signifikante Beziehungen, die besonders in den unteren Keimzahlbereichen hinreichende Differenzierungsmöglichkeiten erlauben (TOLLE et al., 1972; HEESCHEN et al., 1974; KELLER, 1977).

Dieser Zusammenhang wird auch in praktischen Untersuchungen von HEESCHEN, SUHREN und TOLLE (1977b) sowie BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG (1978) bestätigt, die mit einer Verbesserung des Pyruvatniveaus in bestimmten Molkereieinzugsbereichen auch eine korrespondierende Verbesserung der

bakteriologischen Verhältnisse feststellen konnten.

Mit einer Beeinflussung der Pyruvatwerte durch den Zellgehalt ist nur bei pathologisch erhöhten Werten bzw. bei Zellzahlen von mehr als 3×10^6 /ml zu rechnen (TOLLE et al., 1972; WERNERY, 1972).

Da sowohl bei eintägigem, als auch bei zweitägigem Ablieferungsintervall der Milch der von den Pyruvatwerten abgeleitete Informationsgehalt gleich bleibt, ist nach Ansicht der oben genannten Autoren und entsprechend den Mitteilungen der MILCHWIRTSCHAFTLICHEN UNTERSUCHUNGS- UND VERSUCHSANSTALT KEMPTEN (MUVA Kempten, 1976) die Pyruvatbestimmung zur Qualitätsbeurteilung der Anlieferungsmilch grundsätzlich geeignet.

Diese Eignung des Parameters Pyruvat zur Erfassung der bakteriologischen Wertigkeit von Rohmilch wird neuerdings von einigen Autoren aus verschiedenen Gründen erheblich in Zweifel gezogen.

Während BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG (1978) in der Ausflockung des Milcheiweißes durch die Säurekonservierung ein noch ungelöstes meßtechnisches Problem der kontinuierlichen Durchflußanalyse sehen, stellt ELBERTZHAGEN (1977) die Trichloressigsäurekonservierung aufgrund ihrer enormen Streubreite (50 bis 150 %) grundsätzlich in Frage. ELBERTZHAGEN und MENNINGER (1977) beobachteten außerdem, daß bei einer Lagerungstemperatur von 5°C - besonders ausgeprägt bei niedrigen Anfangskeimzahlen - in Milchproben (Rohmilch mit steriler UHT-Milch verdünnt) der Pyruvatgehalt erst nach einer Anlaufphase von etwa zwei bis drei Tagen deutlich anstieg, obwohl das Keimwachstum sofort mit maximaler Vermehrungsgeschwindigkeit einsetzte. Bei Proben, denen zu Beginn der Lagerung Pyruvatmengen von 25 ppm und mehr zugesetzt worden waren, trat in diesem Zeitraum sogar eine stärkere Abnahme des Pyruvatgehaltes auf. Der hemmende Einfluß eines hohen Pyruvatanfangsgehaltes auf die weitere Pyruvat-

zubildung von Bakterien geht auch aus den Untersuchungen von AROLD (1977) hervor, und RÖSCHKE (1977) hat an einem konstruierten Beispiel deutlich gemacht, welche Fehlbeurteilungen in bezug auf die Einschätzung der bakteriologischen Qualität von Rohmilch sich aus dieser Tatsache ergeben könnten.

BRUNS (1976), ZANDSTRA und DE VRIES (1977), ELBERTZHAGEN (1977) und UNGLAUB, LUBENOW und GERLACH (1978) kommen übereinstimmend zu dem Ergebnis, daß in Keimzahlbereichen unter 10^6 /ml überhaupt keine oder nur eine sehr geringe Beziehung zwischen Pyruvat und Gesamtkeimzahl besteht. Eine differenzierte bakteriologische Betrachtung der Anlieferungsmilch in diesem vorrangig interessierenden Keimzahlbereich nur mit Hilfe der Pyruvatmethode sei deshalb nicht möglich (WERNERY, 1972; BRUNS, 1976).

Eine weitere Einschränkung der Pyruvatmethode ergibt sich aus der Tatsache, daß die Korrelation zwischen Pyruvat und Keimgehalt sich erst ca. 24 Stunden nach der Milchgewinnung einstellt. Da in tiefgekühlter Milch von 4°C noch 6 Stunden nach der Gewinnung kein Zusammenhang zwischen diesen beiden Größen zu erkennen war, halten SPRINGMEYER, LÜBENAU-NESTLE und BEYER (1976) die Qualitätsbeurteilung von zweimal täglich angelieferter Milch anhand der Pyruvatbestimmung für fragwürdig. Ferner gaben sie zu bedenken, daß trotz des von ihnen gefundenen hohen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,78$ für einzelne Proben dieser Zusammenhang nicht in dem Maße zutrifft. So beobachteten BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG (1978) verschiedentlich, daß Anlieferungsmilchproben mit hohen Keimzahlen niedrige Pyruvatwerte aufwiesen, während umgekehrt in Proben mit niedrigen Keimzahlen erhöhte Pyruvatwerte gemessen werden konnten. Gerade das letztere Phänomen, das nach Ansicht dieser Autoren u.a. auf den Einfluß euterkranker Tiere zurückgeht, hätte aber eine ungerechtfertigte Benachteiligung des betroffenen Milcherzeugers zur Folge. WIESNER (1975) hat in Rohmilch aus 69 Erzeugerbetrieben den Aussagewert des Pyruvatge-

haltes über die Produktionsverhältnisse anhand von Vergleichsparametern wie Gesamtkeimzahl und Anzahl coliformer Keime eingehend untersucht. Dabei kommt er zu dem Ergebnis, daß mit der Pyruvatbestimmung bei Anlegen eines Grenzwertes von 1,3 ppm als Ausdruck einer befriedigenden Produktionshygiene ca. 50 % der Proben falsch eingestuft würden. Nach ZANDSTRA und de VRIES (1977) und AROLD (1977) erlaubt der Pyruvatgehalt keine zuverlässige Aussage über die Lagerungszeit der Milch, da bei Lagerungstemperaturen von unter 4 °C der Pyruvatanstieg in den ersten Tagen innerhalb der Größenordnung der normalen Variationsbreite der Basiswerte liegt. UNGLAUB, LUBENOW und GERLACH (1978) haben bei einem Vergleich von Pyruvatwerten aus Rohmilch (Ausgangswert) und den Pyruvatwerten der daraus gewonnenen Trinkmilch (Folgewert) festgestellt, daß im Einzelfall der Folgewert eines hohen Ausgangswertes durchaus vom Folgewert eines niedrigen Ausgangswertes übertroffen werden kann. Es sei deshalb mit der Pyruvatmethode nicht uneingeschränkt möglich, von den Werten der Trinkmilch auf die Beschaffenheit der verwendeten Rohmilch zu schließen. Schließlich fand KIND (1978) in Untersuchungen an pasteurisierter Trinkmilch, daß der Pyruvatdifferenzwert in ca. 20 % der Fälle zur Beurteilung der Qualität und Haltbarkeit von Trinkmilch nicht geeignet war.

2.3. Erhebung des Eutergesundheitsstatus über den Zellgehalt der Anlieferungsmilch

Zwischen der Anzahl somatischer Zellen in der Milch als Ausdruck des Funktions- und Gesundheitszustandes der Milchdrüse einerseits und der Menge und der Zusammensetzung der Milch andererseits besteht eine gesetzmäßige Beziehung (HEESCHEN et al., 1972b). Ebenso erwiesen ist der Zusammenhang zwischen der Höhe der Zellzahl und der prozentualen Häufigkeit positiver bakteriologischer Befunde (REICHMUTH, 1968). PEARSON und GREER (1974) stellten für verschiedene Kombinationen zellulärer Reaktionen und

Bakterienisolierungen Korrelationsberechnungen an und erhielten bei Einteilung in fünf Infektionskategorien Korrelationskoeffizienten von $r = 0,71$ und $0,88$. Obwohl der Zellgehalt in der Sammelmilch eines Bestandes durch verschiedene Faktoren wie Anzahl, Rasse und Laktationsstadium der Tiere beeinflußt wird, kann doch mit relativ hoher Sicherheit - ersichtlich aus den Untersuchungen von ZEIDLER et al. (1969) und KLEINSCHROTH, REICHMUTH und ZEIDLER (1969) - aus der laufenden zytologischen Kontrolle der Anlieferungsmilch eine ausreichende Information über die Mastissituation der Erzeugerbetriebe erlangt werden. Mit der optischen Zählmethode im Auto-Analyzer-II (HEESCHEN et al., 1972b) - die genaue Arbeitsweise dieses Gerätes wird in Kapitel 3.1.2.3.1. beschrieben - und der elektronischen Partikelzählung im Coulter-Counter (ZEIDLER, TOLLE und HEESCHEN, 1968) stehen zwei Zählverfahren zur Verfügung, mit denen bei relativ hoher Meßgenauigkeit und mit vertretbarem Zeitaufwand der Milchzellgehalt ermittelt werden kann (STELZER, 1973; NEWBOULD, 1974).

3. Eigene Untersuchungen

Die eigenen Untersuchungen gliedern sich in drei Abschnitte: Zunächst wurden in Zeitreihenuntersuchungen Statuserhebungen über Pyruvatgehalt, Gesamtkeimgehalt und Gehalt an somatischen Zellen in 1971 Anlieferungsmilchproben von 108 Milchproduktionsbetrieben mit einmal täglicher Anlieferung vorgenommen. In einer zweiten Untersuchungsreihe wurde in zwölf Betrieben der Hygienestatus ermittelt und dessen Einfluß auf den Pyruvatgehalt der Anlieferungsmilch geprüft. Schließlich wurden in zwölf Herden Viertelgemelksproben aller Kühe gezogen und auf die Beziehungen zwischen dem Pyruvatgehalt und dem labordiagnostisch ermittelten Eutergesundheitszustand untersucht. In dieser dritten Versuchsreihe wurde gleichzeitig auch der Frage nachgegangen, ob zwischen dem Blutpyruvatgehalt und dem Pyruvatgehalt der unter sterilen Kautelen entnommenen Viertelgemelksproben eine Beziehung besteht.

3.1. Zeitreihenuntersuchungen in Milchproduktionsbetrieben zur Bestimmung von Pyruvatgehalt, Gesamtkeimzahl und Anzahl somatischer Zellen in der Anlieferungsmilch

3.1.1. Material

Für diese Untersuchungen wurden 80 Milcherzeugerbetriebe einer oberbayerischen Molkerei ausgewählt. 40 dieser Erzeuger gehörten zu einem Tankwageneinzugsbereich, der nach Untersuchungen von BIERL (1979) als Lieferant qualitativ hochwertiger Rohmilch bekannt war, die anderen 40 Betriebe wurden aus einem Gebiet ausgewählt, in dem mit schlechterer Rohmilchqualität gerechnet werden mußte. Zunächst wurde in diesen Betrieben von Februar bis Juli 1977 in wöchentlichem Abstand je Betrieb eine Probe der Anlieferungsmilch aus dem Hofbehälter manuell unmittelbar vor der Übernahme der Milch in den Tanksammelwagen entnommen. Dazu wurde entsprechend den Vorschriften der Deutschen Methodenkommission (DMK, 1960) das Tagesgemelk mit einem Lochplattenrührer kräftig gemischt und danach mit einer sterilen Pipette ca. 30 ml Milch entnommen. Diese Milchproben wurden nun jeweils portioniert in eine Teilprobe für die Pyruvatbestimmung (6 ml Milch zu 3 ml 10%ige Trichloressigsäure entsprechend den Vorschlägen des Instituts für Hygiene der Bundesanstalt für Milcforschung (1976)), eine zweite für die Bestimmung der Anzahl somatischer Zellen (10 ml Milch zu 0,2 ml 3,5%iger Formaldehydlösung nach HEESCHEN et al., 1972b) und eine dritte Teilprobe für die Bestimmung der Gesamtkeimzahl (10 ml Milch in ein Originalröhrchen mit Lyophilisat 20 nach HEESCHEN et al., 1969). Die so fixierten Anlieferungsmilchproben wurden dann auf die oben genannten Parameter untersucht, und zwar die Gesamtkeimzahl nach spätestens 24 Stunden, die Anzahl somatischer Zellen nach 48 Stunden und der Pyruvatgehalt in der Regel am dritten Tag nach der Probenahme. Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl konnte allerdings nur in 18 Betrieben regelmäßig durchgeführt werden.

Im August 1977 wurden in 68 Betrieben täglich Milchproben der Anlieferungsmilch gezogen, wobei eine Automatik der Fa. Schwarte im Tanksammelwagen benutzt wurde. Während der Hofbehälterentleerung wurden je Betrieb ca. 50 ml Milch in Probegefäße abgezweigt, die zur Fixierung für die Pyruvat- und Zellzahlbestimmung jeweils 1 ml 3,5%ige Formaldehydlösung enthielten. Die Untersuchung dieser Proben auf ihren Pyruvatgehalt erfolgte innerhalb von 3 Stunden nach der Probenahme. Die Bestimmung der Anzahl somatischer Zellen wurde ca. 24 Stunden später durchgeführt.

3.1.2. Methodik

3.1.2.1. Pyruvatgehalt

Die enzymatische Bestimmung des Pyruvatgehaltes der Milch erfolgte in der kontinuierlichen Durchflußanalyse mittels Auto-Analyzer-II-System der Fa. Technicon entsprechend der Methode nach STAHLHUT-KLIPP (1975). Dieser Analyse liegt folgendes Reaktionsschema zugrunde: Pyruvat wird bei gleichzeitiger Oxydation von $\text{NADH}^+ + \text{H}^+$ in Anwesenheit von Laktatdehydrogenase zu Laktat reduziert. Die während der Reaktion verbrauchte Menge an $\text{NADH}^+ + \text{H}^+$ ist der Pyruvatmenge äquivalent. Die Abnahme von $\text{NADH}^+ + \text{H}^+$ wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt. Um Einflüsse anderer Substanzen in der Milch auszuschalten, die ebenfalls bei 340 nm eine Absorption zeigen können, wird mit "BLANK" in einem zweistrahligem Photometer gegen den jeweiligen Blindwert der Probe gemessen. Die Kontrolle des Analysensystems wird durch Einschalten eines Pyruvatstandards nach jeder zehnten Probe vorgenommen.

3.1.2.2. Gesamtkeimzahl

Die Gesamtkeimzahl wurde mit dem Plattengußverfahren nach KOCH entsprechend den Empfehlungen des Internationalen Milchwirtschaftsverbandes (IDF, 1958) ermittelt, wobei die Anzahl der koloniebildenden

den Einheiten aus dem arithmetischen Mittel zweier Ansätze derselben Verdünnungsstufe errechnet wurde. Es wurden nur Platten mit Koloniezahlen zwischen 30 und 300 berücksichtigt. Als Nährmedium diente Plate-Count-Agar (Fa. Oxoid). Die Auszählung der Platten erfolgte makroskopisch.

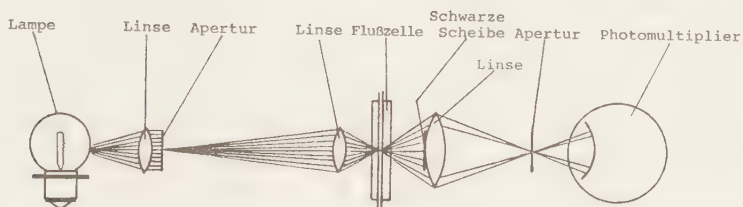
3.1.2.3. Anzahl somatischer Zellen

3.1.2.3.1. Automatisierte Zählung im Auto-Analyzer-II-System

Die Bestimmung der Anzahl somatischer Zellen wurde im Auto-Analyzer-II-System der Fa. Technicon nach HEESCHEN et al. (1972b) vorgenommen. Die Messung beruht auf folgendem Prinzip (Abb. 1 nach HEESCHEN et al., 1972b): Ein von einer weißglühenden Lampe erzeugter Lichtstrahl durchläuft ein Linsensystem und wird in der Mitte einer Durchflußküvette, die von den einzelnen Proben durchlaufen wird, fokussiert. Befindet sich kein Partikel in dieser Durchflußküvette, so fällt der Lichtstrahl unabgelenkt auf eine hinter der Küvette befindliche schwarze Scheibe und wird dort absorbiert. Bei Vorhandensein eines Teilchens wird der Lichtstrahl an diesem gestreut und gelangt über ein weiteres Linsensystem auf eine Photozelle, in der ein elektrischer Impuls erzeugt wird. Die Anzahl der Stromstöße ist proportional der Anzahl der Teilchen, die die Durchflußküvette durchlaufen. Durch Schwellenwertveränderungen können Störimpulse eliminiert werden. Die Impulse werden verstärkt und in "Millivolt" von einem Schreiber registriert.

Durch das Mitführen eines internen Standards in Form einer Milchleukozytensuspension wurde das Analysensystem ständig kontrolliert.

Abb. 1: Schematische Darstellung des Somatic-Cell-Counting-Prinzips (nach HEESCHEN et al., 1972b)



3.1.2.3.2. Teilautomatisierte Zählung im "Coulter-Counter"

Bei 320 dieser Milchproben wurde die Bestimmung der Anzahl somatischer Zellen zur Objektivierung der Ergebnisse mit dem Modell "FN" des Coulter-Counters entsprechend der Methodik nach ZEIDLER, TOLLE und HEESCHEN (1968) wiederholt.

3.2. Erhebungen über den Einfluß der Melkhygiene auf den Pyruvatgehalt der Rohmilch

3.2.1. Material

Diese Untersuchungen wurden in insgesamt zwölf Milcherzeugerbetrieben durchgeführt, die aufgrund der Zeitreihenuntersuchungen (Kapitel 3.1.1.) hinsichtlich des mittleren Pyruvatgehaltes ausgewählt wurden. Vier Betriebe zeigten danach mit 0,33 bis 0,46 ppm im Durchschnitt niedrige Pyruvatgehalte in ihrer Anlieferungsmilch, vier weitere mit 0,99 bis 1,08 ppm mittlere und die restlichen vier mit 1,43 bis 1,86 ppm erhöhte Konzentrationen. Die Herdengröße lag zwischen 6 und 23 Kühen. In fünf Betrieben wurde mit einer Rohrmelkanlage gemolken, in sieben Betrieben stand eine Eimermelkan-

lage zur Verfügung. Einige wesentliche Strukturmerkmale sind in Tabelle 4 aufgeführt, wobei die Betriebe entsprechend dem mittleren Pyruvatgehalt ihrer Anlieferungsmilch geordnet sind.

Tabelle 4: Strukturmerkmale der 12 Erzeugerbetriebe

Be- trieb	Auf- stallungs- form	Herden- größe	Melkan- lagen- typ	Zahl d. Melker	mittlerer Pyru- vatgehalt ($\bar{x}_a$) d. Anlieferungs- milch (ppm)
A	GR	20	RM	2	0,33
B	GR	19	RM	1	0,34
C	ML	16	RM	1	0,42
D	ML	17	RM	1	0,46
E	ML	23	EM	1	0,99
F	ML	14	EM	1	1,04
G	ML	12	EM	1	1,07
H	ML	16	EM	1	1,08
I	ML	6	EM	1	1,43
K	ML	17	EM	1	1,47
L	ML	13	EM	2	1,71
M	GR	23	RM	1	1,86

GR = Anbindestall mit Güllewirt-
schaft (Gitterrost)

EM = Eimermelkanlage

ML = Anbindestall mit Dungwirt-
schaft (Mittellangstand)

RM = Rohrmelkanlage mit von-
einander getrenntem Va-
kuum und Milchtransport

3.2.2. Methodik

In den Betrieben wurde eine einmalige Besichtigung durchgeführt. Hierbei wurde zunächst der Hygienestatus des Kuhstalles, der Melkanlage und der Melkgerätschaften grobsinnlich beurteilt. Fer-

ner wurde auf das Vorhandensein von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln geachtet und der Milcherzeuger über die Häufigkeit der Gerätedesinfektion befragt. Zusätzlich wurde in Form einer bakteriologischen Stufenkontrolle der Hygienezustand der Melkanlage und der Melkgerätschaften objektiviert. Dazu wurden vor dem Abendmelken an jeweils zwei Punkten der Melkanlage - Zitzenbecherinnenraum und Milchauslaufrohr bei Rohrmelkanlagen, Zitzenbecherinnenraum und Melkeimer bei Eimermelkanlagen - und aus dem Hof-tank Tupferproben entnommen. Aus arbeitstechnischen Gründen wurden diese Tupfer, die in 10 ml autoklavierter Nährbouillon verbracht wurden, 16 Stunden bei 8°C gelagert, und danach wurde die Gesamtkeimzahl sowie die Anzahl der coliformen Keime in der Bouillon bestimmt. Nach dem Abendmelken wurde im Anschluß an die Betriebsbesichtigung eine Probe des Abendgemelkes der jeweiligen Herde entnommen, die nach Aufteilung und Fixation (3.1.1.) auf Gesamtkeimzahl, Anzahl coliformer Keime, Zell- und Pyruvatgehalt untersucht wurde (3.1.2.). Die Anzahl coliformer Keime wurde im Plattengußverfahren auf Violet-Red-Bile-Agar (Fa. Oxoid) ermittelt. Als Coliforme wurden alle Keime erfaßt, die innerhalb von 24 Stunden bei 30°C über 0,5 mm große, rotviolette Kolonien bildeten.

3.3. Untersuchungen über den Zusammenhang von Eutergesundheitsstörungen und Pyruvatgehalt in Viertelgemelksproben

3.3.1. Material

In den zwölf unter 3.2.1. genannten Betrieben (Tabelle 4) wurde im Winter 1977 je Herde eine einmalige Viertelgemelksprobenuntersuchung aller laktierenden Kühe durchgeführt. Von insgesamt 196 Kühen der Rasse "Deutsches Fleckvieh" konnten dabei 780 Viertelgemelksproben analysiert werden. Die Viertelgemelksproben wurden im Rahmen des normalen Melkens nach Vorreinigung und Desinfektion des Striches sowie Verwerfen der ersten Strahlen nach DIERNHOFER (1950) entnommen und entsprechend 3.1.1. für die Unter-

suchung auf Zellgehalt, Pyruvatgehalt und euterpathogene Keime aufgeteilt.

3.3.2. Methodik

Pyruvatgehalt und Zellgehalt der Proben wurden wie unter 3.1.2.1. und 3.1.2.3.1. im Auto-Analyzer-II-System ermittelt. Der Nachweis euterpathogener Mikroorganismen erfolgte nach den vom NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1969) herausgegebenen Richtlinien auf Blutplatten (Blood Agar Base No. 1, Fa. Oxoid mit 5 % gewaschenen Rindererythrozyten und Aeskulinzusatz). Die Auswertung der zytologischen und bakteriologischen Befunde wurde gemäß den Empfehlungen des Internationalen Milchwirtschaftsverbandes (IDF, 1971) vorgenommen.

3.4. Ergänzende Untersuchungen zum Vergleich des Pyruvatgehaltes in Blut und Viertelgemelksproben

3.4.1. Material

Bei 15 Kühen, die zur Schlachtung bestimmt waren, wurden sowohl Blutproben aus der Vena jugularis entnommen (ca. 20 ml ohne Antikoagulans) als auch gleichzeitig Viertelgemelksproben. Der Zeitpunkt des letzten Melkens konnte nicht genau festgestellt werden, jedoch kann davon ausgegangen werden, daß er bei der Probenahme mindestens sechs Stunden zurücklag. Alle Proben wurden bis zur Untersuchung etwa ein bis drei Stunden im Eiswasserbad gelagert.

3.4.2. Methodik

Die Viertelgemelksproben wurden zytologisch-bakteriologisch (3.1.2.3.1. und 3.3.2.) und auf ihren Pyruvatgehalt (3.1.2.1.) untersucht, die Blutproben nur auf letzteren. Dazu wurde nur das Blutserum (Zentrifugieren für die Dauer von 10 Minuten bei 3000 U/min.) zur Analyse verwendet.

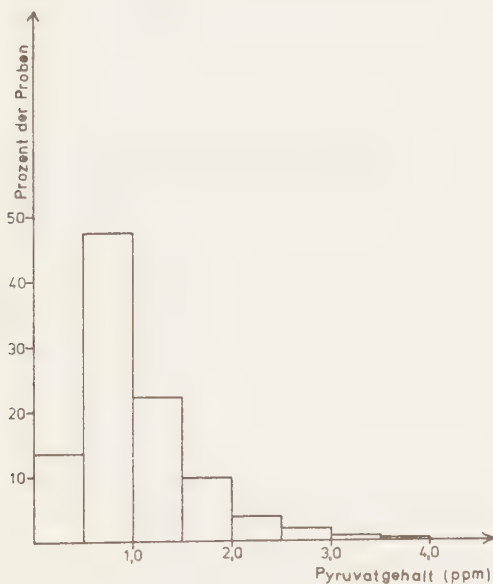
4. Untersuchungsergebnisse

4.1. Ergebnisse der Zeitreihenuntersuchungen

4.1.1. Pyruvatgehalt in Anlieferungsmilch

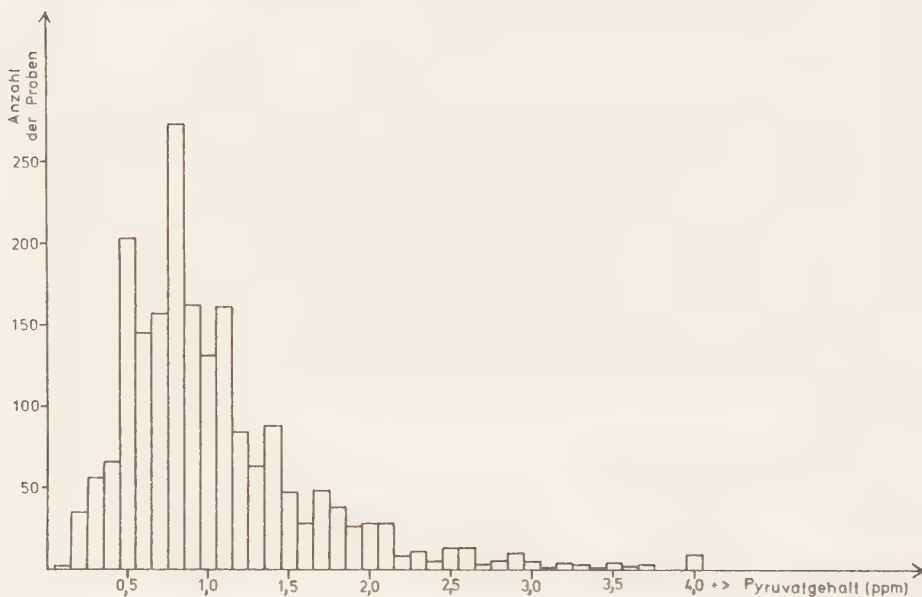
Der Pyruvatgehalt wurde in 1971 Anlieferungsmilchproben bestimmt. Die Rohmilch enthielt auf der Erzeugerebene bei der Übernahme in den Tanksammelwagen zwischen 0,1 und 6,3 ppm Pyruvat. Der arithmetische Mittelwert lag bei 1,03 ppm. Die Häufigkeitsverteilung der ermittelten Pyruvatwerte geht aus den Abbildungen 2 und 3 hervor.

Abb. 2: Prozentuale Verteilung der Pyruvatwerte aus 1971 Anlieferungsmilchproben



In Abbildung 2 ist zu erkennen, daß 13,5 % der Proben unter 0,5 ppm, 61 % unter 1,0 ppm, 92,8 % unter 2,0 ppm und nur 7,2 % bei 2,0 ppm und darüber liegen. Eine starke Häufung der Proben im Bereich zwischen 0,5 und 1,1 ppm kommt in Abbildung 3 zum Ausdruck.

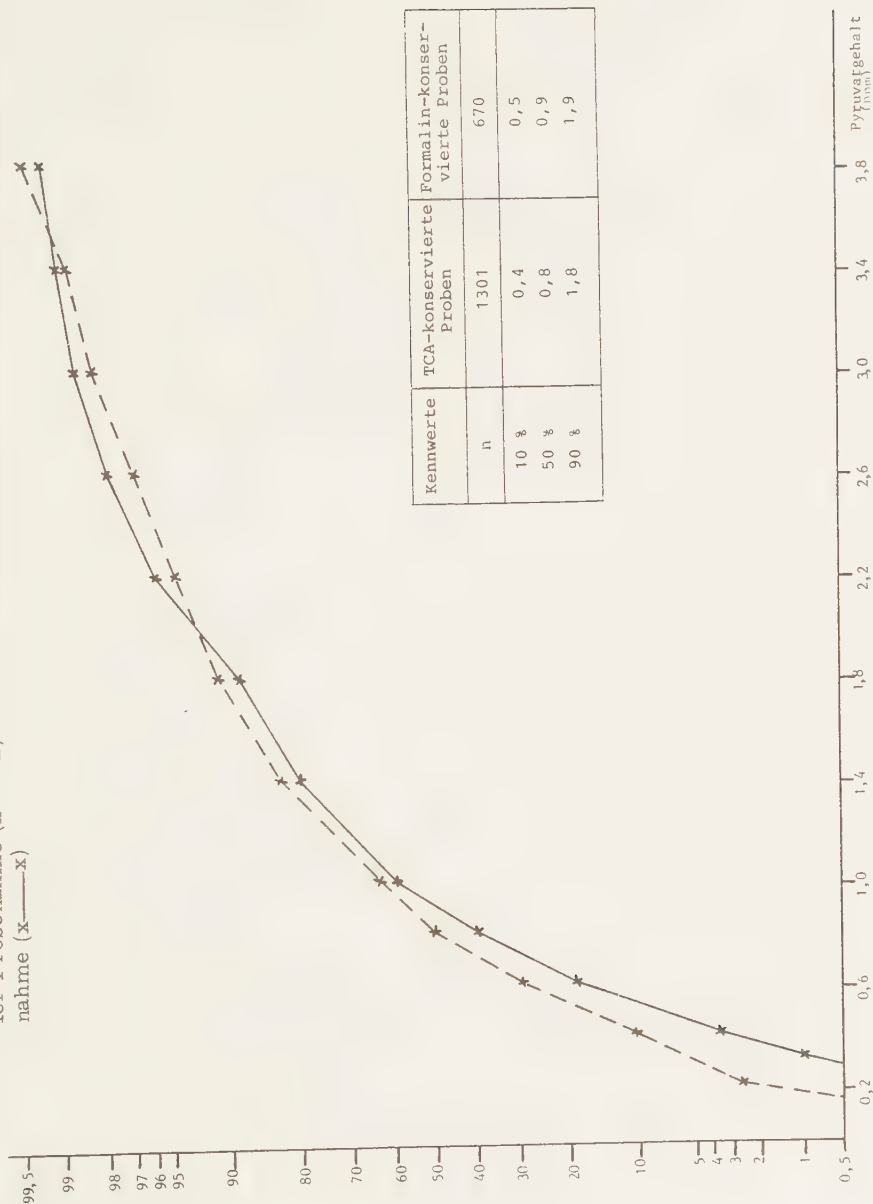
Abb. 3: Häufigkeitsverteilung der Pyruvatwerte aus 1971 Anlieferungsmilchproben



Wegen der unterschiedlichen Probenahmemethoden und der verschiedenen Konservierungsstoffe (3.1.1.) sind die Verteilungen der Pyruvatwerte der sich damit ergebenden beiden Gruppen in Abbildung 4 in Form der Summenprozentverteilung miteinander verglichen.

Beide Linien laufen vor allem ab Bereichen von etwa 1,0 ppm Pyruvat so dicht beieinander, daß praktisch für beide Gruppen die gleiche Häufigkeitsverteilung angenommen werden kann. Diese Feststellung wird auch durch die Kennwerte auf der 10 %-, 50 %- und 90 %-Ebene unterstrichen. Auf die Darstellung der Häufigkeitsverteilung für das gesamte Probenmaterial, deren Kurvenverlauf sich zwischen den ausgezeichneten Linien bewegt, wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit in dieser Graphik verzichtet.

Abb. 4: Summenprozentverteilung der Pyruvatergebnisse aus TCA-konservierten Proben bei manueller Probenahme (x- - - - x) und aus Formalin-konservierten Proben bei automatischer Probenahme (x — x)



In den Tabellen 5 und 6 sind die Pyruvatmittelwerte, Variationskoeffizienten und Extremwerte einiger Lieferanten bei wöchentlichem (16 Lieferanten mit je 12 Analysen) und bei täglichem (8 Lieferanten mit je 10 Untersuchungen) Probenahmeintervall gegenübergestellt.

Tabelle 5: Mittelwerte, Variationskoeffizienten und Extremwerte der Pyruvatgehalte in 192 Anlieferungsmilchproben von 16 Lieferanten bei wöchentlicher Untersuchung

Lieferanten Nr.	Pyruvatwerte (ppm)			
	Minim.	Maximum	$\bar{x}_a$	v (%)
1	0,5	2,0	1,0	50
2	0,4	1,2	0,7	43
3	0,5	1,4	1,0	40
4	0,4	0,9	0,6	33
5	0,5	1,0	0,7	29
6	0,3	0,8	0,6	33
7	0,5	2,4	1,1	55
8	0,5	1,4	1,1	18
9	0,8	2,3	1,2	33
10	0,8	1,4	1,2	17
11	0,9	2,0	1,4	29
12	0,3	2,9	1,0	80
13	0,8	1,5	1,0	20
14	0,5	2,3	1,1	45
15	0,7	1,0	0,8	13
16	0,5	1,1	0,7	29

Tabelle 6: Mittelwerte, Variationskoeffizienten und Extremwerte der Pyruvatgehalte in 80 Anlieferungsmilchproben von 8 Lieferanten bei täglicher Untersuchung

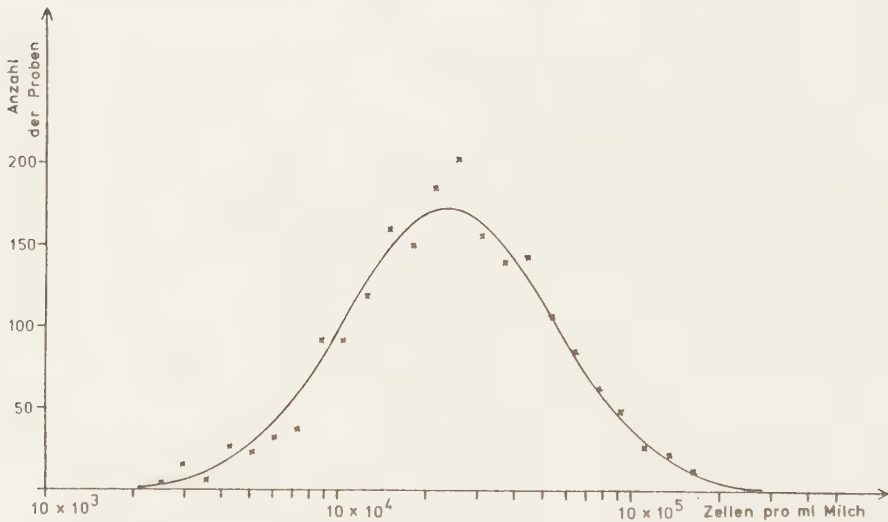
Lieferanten Nr.	Pyruvatwerte (ppm)			
	Minim.	Maximum	$\bar{x}_a$	v (%)
2	0,5	0,8	0,6	17
4	0,6	1,3	0,9	22
6	0,8	1,2	1,0	20
8	1,0	1,5	1,1	36
10	0,8	1,3	1,1	18
12	0,4	0,9	0,7	29
14	0,6	1,4	0,9	22
16	0,3	1,0	0,8	25

Die Pyruvatgehalte der Tabelle 5 zeigen mit Werten zwischen 0,3 ppm und 2,9 ppm eine merklich größere Variationsbreite als diejenigen der Tabelle 6, die nur in einem Bereich zwischen 0,3 ppm und 1,5 ppm liegen. Dementsprechend bewegen sich die Variationskoeffizienten im ersten Fall zwischen 13 und 80 %, während im zweiten Fall solche von 17 bis maximal 36 % errechnet werden konnten. In diesem Zusammenhang fällt auf, daß in Tabelle 5 (Pyruvatgehalte bei wöchentlicher Probenahme) für Lieferanten, wie z.B. Nr. 1, 7, 12, bei denen relativ hohe Pyruvatmittelwerte ermittelt werden konnten, hohe Variationskoeffizienten von 50 % bis 80 % errechnet wurden. Ein Vergleich dieser beiden Tabellen macht deutlich, daß in dem Untersuchungszeitraum mit kurzen Probenahmeintervallen gleichmäßigere Pyruvatwerte zu erwarten sind als bei größeren Untersuchungsabständen.

4.1.2. Anzahl somatischer Zellen und Pyruvatgehalt in Anlieferungsmilch

Die Untersuchung der 1971 Proben auf den Gehalt an somatischen Zellen erbrachte Zellgehalte zwischen 10^4 /ml und 3×10^6 /ml; im geometrischen Mittel waren es rund 241×10^3 Zellen/ml. Dabei lagen 81 % der Proben unter 500×10^3 Zellen/ml, 14 % zwischen 500×10^3 und 10^6 Zellen/ml und nur 5 % über einer Grenze von 10^6 Zellen/ml. In Abbildung 5 ist die Häufigkeitsverteilung der ermittelten Zellzahlen in einem Koordinatensystem mit logarithmisch unterteilter Abszisse dargestellt.

Abb. 5: Häufigkeitsverteilung der Zellzahlen aus 1971 Anlieferungsmilchproben (logarithmische Darstellung)



Die Kurve beginnt mit einem Wert von etwa 20×10^3 Zellen/ml, erreicht ihre maximale Häufung zwischen 200×10^3 und 300×10^3 /ml und nimmt dann mit steigenden Zellzahlen bis zu dem größten Wert von 3 Millionen Zellen/ml (Werte unter 20×10^3 und über 2 Millio-

nen/ml wurden in der Abbildung nicht mehr berücksichtigt) unter flacher werdendem Verlauf ab. Es zeigt sich, daß die Zellzahlbefunde in der Anlieferungsmilch sich einer logarithmischen Normalverteilung annähern.

In Tabelle 7 wurden die Zellzählungsergebnisse in neun Klassen eingeteilt und der mittlere Pyruvatgehalt jeder Gruppe bestimmt.

Tabelle 7: Mittlerer Pyruvatgehalt für 1971 Anlieferungsmilchproben bei Einteilung in 9 Zellzahlklassen

Zellzahlbereich in $10^3/\text{ml}$	n	Pyruvatgehalt in ppm ($\bar{x}_a$)	v (%)
≤ 20	19	0,57	26
$> 20 \leq 50$	70	0,82	71
$> 50 \leq 100$	206	0,93	67
$> 100 \leq 300$	912	0,98	64
$> 300 \leq 500$	390	1,05	55
$> 500 \leq 800$	229	1,11	62
$> 800 \leq 1200$	86	1,25	46
$> 1200 \leq 2000$	39	1,65	45
> 2000	20	1,87	50

Diese Tabelle zeigt, daß mit steigenden Zellzahlen auch der mittlere Pyruvatgehalt zunimmt. Es steht jedoch einem weiten Zellzahlbereich nur ein sehr enger Pyruvatbereich gegenüber. So entspricht z.B. einem Zellzahlbereich von etwa $50 \times 10^3/\text{ml}$ bis $1,2 \times 10^6/\text{ml}$ ein Pyruvatkonzentrationsbereich von nur 0,93 bis 1,25 ppm, also einer Spanne von 1,15 Millionen Zellen nur eine solche von 0,32 ppm Pyruvat. Der Korrelationskoeffizient $r = +0,19$ für das gesamte Pro-

benmaterial läßt keine sehr enge Beziehung zwischen den beiden Parametern erkennen, obwohl der Einfluß der Zellzahl auf den Pyruvatgehalt der Rohmilch damit statistisch bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % signifikant ist. Eine gesonderte Errechnung zwischen den beiden Parametern nach den bereits für die Pyruvathäufigkeitsverteilung (Abb. 4) zugrundegelegten Gesichtspunkten ergibt für das manuell entnommene Untersuchungsmaterial (TCA-Konservierung) einen Korrelationskoeffizienten von $r = +0,20$ und für die automatisch gezogenen Milchproben (Formalin-Konservierung) einen solchen von $r = +0,27$ (beide mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % signifikant).

4.1.3. Gesamtkeimzahl und Pyruvatgehalt in Anlieferungsmilch

Aus organisatorischen Gründen konnte die Bestimmung der Gesamtkeimzahl nur für 292 der insgesamt 1971 Anlieferungsmilchproben durchgeführt werden. In diesem Untersuchungsmaterial - ausschließlich manuell gezogene Proben - konnten Werte zwischen $8,6 \times 10^3$ und $57,5 \times 10^6$ Keimen/ml ermittelt werden. Das geometrische Mittel betrug $445,5 \times 10^3$ /ml. Dabei enthielten 14 % der Proben eine Gesamtkeimzahl bis zu 100×10^3 /ml, 53 % bis zu 500×10^3 /ml, 75 % bis zu 10^6 /ml, 22 % zwischen 10^6 und 10^7 /ml und 3 % über 10^7 Keimen/ml.

In der Tabelle 8 wurden die ermittelten Keimzahlwerte in sieben Klassen unterteilt. Für die jeweilige Gesamtkeimzahlklasse wurde der mittlere Pyruvatwert ($\bar{x}_a$) errechnet.

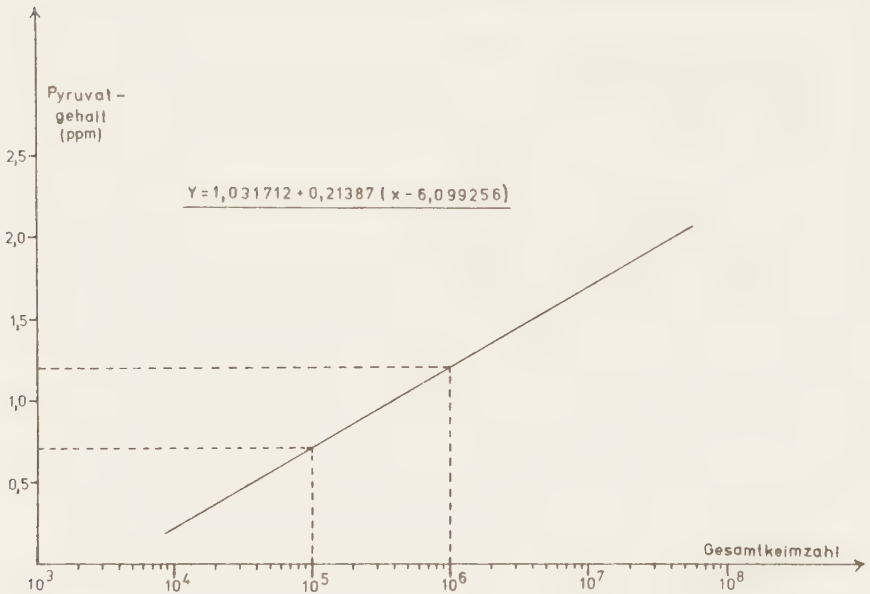
Es wird ersichtlich, daß steigende Gesamtkeimzahlwerte auch mit einem Anwachsen des mittleren Pyruvatgehaltes der Rohmilch verbunden sind. Dabei sind die Unterschiede zwischen dem Pyruvatgehalt der Keimzahlklasse bis zu 100×10^3 Keimen/ml mit 0,65 ppm und der Keimzahlklasse von über 10^7 Keimen/ml mit 2,19 ppm sehr deutlich. Die mittleren Keimzahlklassen von mehr als 100×10^3 bis 10^6 /ml unterscheiden sich dagegen mit 0,83 bis 0,95 ppm nur sehr

Tabelle 8: Mittlerer Pyruvatgehalt für 292 Anlieferungsmilchproben bei Einteilung in 7 Gesamtkeimzahlklassen

Keimzahlbereich in $10^3/\text{ml}$	n	Pyruvatgehalt in ppm ($\bar{x}_a$)	v %
≤ 100	40	0,65	37
$> 100 \quad \leq 250$	67	0,83	47
$> 250 \quad \leq 500$	49	0,94	50
$> 500 \quad \leq 1000$	62	0,95	33
$> 1000 \quad \leq 5000$	49	1,32	48
$> 5000 \quad \leq 10\,000$	16	1,79	102
$> 10\,000$	9	2,19	38

gering. Auch in Abbildung 6, in der die Regressionsgerade zwischen Pyruvat- und Gesamtkeimzahlwerten der Anlieferungsmilchproben dargestellt ist, wird eine lineare Beziehung zwischen den beiden Größen deutlich.

Abb. 6: Regression zwischen Pyruvat und den logarithmisch transformierten Werten der Gesamtkeimzahl (n = 292)



Aus dieser Darstellung kann abgelesen werden, daß z.B. einem Keimzahlbereich von 10^5 bis 10^6 Keimen/ml ein Pyruvatbereich von etwa 0,7 bis 1,2 ppm, also einer Differenz von 900 000 Keimen nur eine solche von 0,5 ppm Pyruvat entspricht. Der statistische Zusammenhang wird durch den Korrelationskoeffizienten $r = +0,58$ (Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 %) gekennzeichnet.

4.2. Pyruvatgehalt und Melkhygiene

4.2.1. Hygienesituation in zwölf Erzeugerbetrieben

In Tabelle 9 sind die hygienischen Verhältnisse in den zwölf Erzeugerbetrieben dargestellt wie sie zum Zeitpunkt der Probenahme angetroffen wurden.

Tabelle 9: Hygienemerkmale der zwölf Erzeugerbetriebe

Betrieb	Zustand d. Stalles	Sauberkeit der Euter	Zustand der Gummitteile d. Melkzeuge	Reinigungs- u. Desinfek- tionsverfah- ren	Häufigkeit d. Reinigung und Desinfektion
A	+	+	+	V Ko N	2 x tägl.
B	+	o	+	V Ko N	2 x tägl.
C	o	+	+	V Ko N	2 x tägl.
D	+	+	+	V Ko N	2 x tägl.
E	+	o	+	O Ko N	2 x tägl.
F	-	o	-	V Ko N	2 x tägl.
G	o	-	-	O Ko N	unregel- mäßig
H	o	o	-	V Ko N	2 x tägl.
I	+	+	-	O Ko N	2 x tägl.
K	-	-	+	O Ko N	2 x tägl.
L	-	-	-	O Ko N	1 x tägl.
M	+	-	-	V Ko N	2 x tägl.

Legende zu Tabelle 9:

Zustand des Stalles:

- + = gut belüftet und sauber
- o = leicht verschmutzt
- = schlechte Belüftung und starker Verschmutzungsgrad (Verstöße gegen § 15 u. 16 der AVO zum Milchgesetz)

Sauberkeit der Euter:

- + = sorgfältig gereinigt
- o = nicht gründlich gereinigt
- = erheblich verschmutzt (Verstöße gegen § 17 der AVO zum Milchgesetz)

Zustand der Gummitteile
an den Melkzeugen:

- + = in Ordnung
- = nicht gründlich gereinigt, überaltert

Reinigungsverfahren
der Melkanlage:

- O = kein Vorspülen mit Wasser
- V = Vorspülen
- Ko = Kombinierte Reinigung und Desinfektion
- N = Nachspülen

In allen zwölf Betrieben waren saure und basische Mittel für die Reinigung und Desinfektion vorhanden.

Die Erhebungen weisen auf die Verschiedenartigkeit der zwölf Erzeugerbetriebe hin. Die Vielfältigkeit ist trotz der geringen Zahl der untersuchten Ställe erheblich und reicht von Beispielen einer Milchgewinnung, die den geltenden Hygieneverordnungen voll entspricht (Betrieb A und D), bis hin zu Beispielen einer Milchproduktion, die in mehrfacher Hinsicht gegen das Milchgesetz und dessen Ausführungsverordnungen verstößt (z.B. Betrieb G und L). Interessant ist auch die Tatsache, daß der Zustand der Gummiteile - vor allem der Sitzgummi - an den Melkzeugen in der Hälfte der Betriebe zu beanstanden war und daß fünf Milcherzeuger die kombinierte Reinigung und Desinfektion ohne Vorspülung vornehmen. Zweimal wurde sogar zugegeben, daß die Reinigung und Desinfektion der Melkanlage nicht regelmäßig bzw. nur einmal täglich durchgeführt wird. Es soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß bei der Befragung über das Reinigungsverfahren der Melkanlage in den beiden letzten Spalten von Tabelle 9 nur das Vorhandensein des Reinigungs- und Desinfektionsmittels überprüft werden konnte, nicht aber dessen richtige und regelmäßige Anwendung. Diese Angaben beruhen auf den Aussagen der Betriebsinhaber. Das Reinigen der Euter und seiner Umgebung wurde in drei Betrieben äußerst nachlässig durchgeführt, so daß in diesen Fällen tatsächlich ein Verstoß gegen § 17/1 der Ausführungsverordnungen zum Milchgesetz gesehen werden mußte. In der ersten Spalte von Tabelle 9 ist auch der allgemeine Zustand der Ställe aufgeführt. Auch wenn der Grad der Einflußnahme des Stallmilieus auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch nicht sehr groß ist, so sind doch immerhin gewisse Rückschlüsse auf das Hygienebewußtsein des Milcherzeugers möglich.

4.2.2. Stufenkontrolle der Melkanlage

In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der bakteriologischen Stufenkontrolle der Melkanlagen in den zwölf Erzeugerbetrieben zusammengestellt und den entsprechenden Gesamtkeimzahlen sowie Pyruvatwerten der Betriebssammelmilchen zugeordnet.

Tabelle 10: Gesamtkeimzahl (GKZ) der von den Melkgerätschaften entnommenen Tupferproben im Vergleich zur Gesamtkeimzahl und zum Pyruvatgehalt der Betriebssammelmilch

Betrieb	GKZ ($\times 10^3$ /ml) der Tupferprobe aus			GKZ ($\times 10^3$ /ml) d. Betriebs- sammel- milch	Pyruvat- gehalt d. Betriebs- sammel- milch
	Zitzen- becher	Rohrleitung/ Melkeimer	Hof- tank		
A	0,1	10,9	0,6	49	0,4
B	3,6	25,1	332	740	0,5
C	0,3	510	22	27	0,5
D	0,1	6,9	0,1	35	0,2
E	35	45 400	83	64	0,6
F	3,1	2 100	37,7	520	0,6
G	2000	2 000	1,6	1250	0,8
H	61	432	2800	415	0,5
I	3580	2 270	45,4	1070	0,6
K	36,8	2 540	1,1	1190	1,9
L	140 000	21,5	42 200	8050	1,6
M	0,3	3	2,5	44,5	0,8

Zu den Gesamtkeimzahlen sowie der Anzahl coliformer Keime, die aus den Tupferproben isoliert wurden, sei vermerkt, daß sie keine absoluten Werte an sich darstellen, sondern durch das Volumen der zugegebenen Nährbouillon mitbestimmt sind. Sie können deshalb nicht direkt auf die entsprechenden Werte in den Betriebssammel-

milchen bezogen werden, sondern dienen nur der Veranschaulichung des hygienischen Status der Melkanlagen und -gerätschaften bzw. dem Vergleich zwischen den einzelnen Betrieben. Für die Beurteilung der Erzeugerbetriebe anhand der Keimzahlen in der Betriebssammelmilch wurde der von LIMMER und WÖBBECKE (1972b) vorgeschlagene Grenzwert von 10^6 Keimen/ml angesetzt, dessen Überschreiten eine Beanstandung zur Folge hätte.

Die vier Betriebe A, C, D und M, die mit weniger als 50 000 Keimen/ml eine sehr keimarme Sammelmilch aufwiesen, hatten auch in den Tupferproben aus den Melkgerätschaften vergleichsweise niedrige Keimzahlwerte. Dagegen waren in den Tupferproben der nach der Keimzahl zu beanstandenden Betriebe G, I, K und L jeweils an einem oder zwei Punkten der Stufenkontrolle z. T. stark erhöhte Werte festzustellen. Auffälligerweise wurde in diesen vier Betrieben, die nachweislich Mängel in der Produktionshygiene erkennen ließen, u.a. auf das Vorspülen der Melkanlage verzichtet. Trotz ungenügender Reinigung der Melkanlage (keine Vorspülung) und der Melkgerätschaften - erkennbar an der hohen Keimzahl der aus dem Melkeimer entnommenen Tupferprobe - sowie einer mangelhaften Säuberung der Euter vor dem Melken war die Sammelmilch von Betrieb E dagegen relativ keimarm bei relativ niedrigem Pyruvatgehalt. Insgesamt stimmen aber die ermittelten Keimzahlbefunde mit den Beobachtungen der Betriebsbesichtigung (Tabelle 9) überein.

Eine Beurteilung der Erzeugerbetriebe aufgrund des Pyruvatgehaltes der Sammelmilch ergibt zwar für die vier Milcherzeuger mit einer keimarmen Sammelmilch ebenfalls niedrige Werte. Es ist jedoch andererseits festzustellen, daß auch die Sammelmilchen der Betriebe G und I trotz erhöhter Keimzahlen immer noch geringe Pyruvatwerte aufweisen.

In Tabelle 11 wird die Produktionshygiene in den Erzeugerbetrieben durch den Nachweis coliformer Keime charakterisiert.

Tabelle 11: Coliforme in den von Melkgerätschaften entnommenen Tupferproben sowie Coliforme und Pyruvatgehalt der Betriebssammelmilch

Betrieb	Coliforme/ml in der Tupferprobe aus			Coliforme/ ml Betriebs- sammelmilch	Pyruvatge- halt Be- triebssam- melmilch (ppm)
	Zitzen- becher	Rohrleitung/ Melkeimer	Hoftank		
A	35	0	0	600	0,4
B	3	5	0	800	0,5
C	0	170	5	40	0,5
D	1	0	0	35	0,2
E	13	160	2	200	0,6
F	12	90 000	19	4500	0,6
G	33	899 000	0	1950	0,8
H	29	32	119 000	3750	0,5
I	200	300	5	3500	0,6
K	0	90 000	7	1350	1,9
L	1370	3 600	2 790 000	7850	1,6
M	10	980	0	600	0,8

Zur Einstufung der einzelnen Betriebe entsprechend den Werten der Sammelmilch wurden die von WIESNER (1975) für einmal täglich angelieferte Bestandmilch empfohlenen Grenzwerte herangezogen. Demgemäß bedeuten Keimzahlen von weniger als 100 Coliformen pro ml ein geeignetes Maß für die Anwendung der erforderlichen Sorgfalt im Verkehr mit Milch, während Keimzahlen von mehr als 1000 Coliformen pro ml m.E. einen mangelhaften Hygienestatus beschreiben.

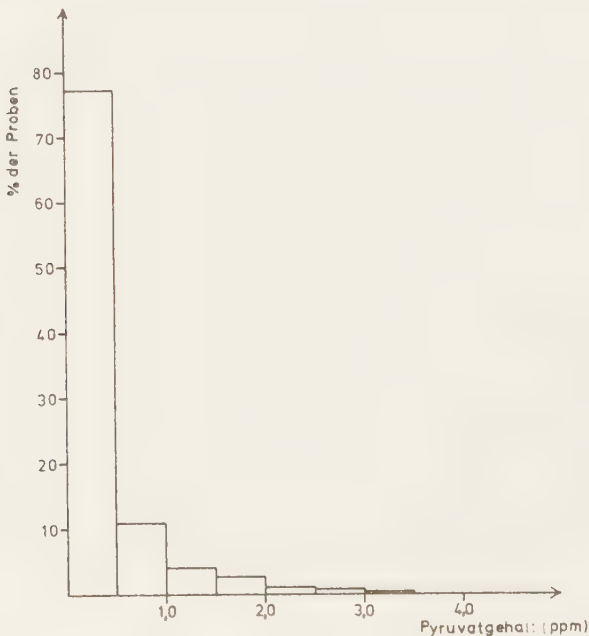
Es zeigt sich, daß über den Nachweis coliformer Keime in der Betriebssammelmilch neben den vier bereits mit Hilfe der Gesamtkeimzahlbestimmung erfaßten Milcherzeugern noch zwei weitere Betriebe, F und H, zu beanstanden wären. Fünf dieser genannten Erzeugerbe-

triebe wiesen in den Tupferproben der Melkanlagen und -gerätschaften wiederum auffallend hohe Gehalte an Coliformen auf. Insgesamt sind die ermittelten Werte erstaunlich hoch, wenn man bedenkt, daß nur zwei Betriebe innerhalb des oben genannten Grenzwertes von 100 coliformen Keimen/ml liegen. Die über den Coliformentiter zusätzlich erfaßten Betriebe F und H zeigen in ihrer Sammelmilch wiederum keine erhöhten Pyruvatkonzentrationen.

4.3. Pyruvatgehalt von Viertelgemelksproben und Eutergesundheit

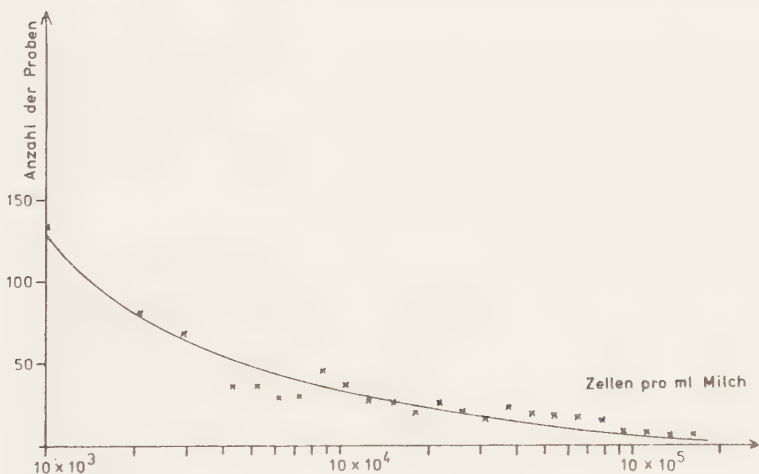
Die 780 untersuchten Viertelgemelksproben enthielten Pyruvatwerte von 0,1 ppm bis 11,5 ppm. Aus den Werten konnte ein arithmetisches Mittel von 0,57 ppm errechnet werden. Aus der Häufigkeitsverteilung in Abbildung 7 ergibt sich, daß 77 % der Proben Pyruvatgehalte von weniger als 0,5 ppm, 88 % von weniger als 1,0 ppm und 94 % von weniger als 2,0 ppm aufwiesen. Pyruvatgehalte von 2,0 ppm und darüber hatten nur 6 % der Proben.

Abbildung 7: Prozentuale Verteilung der Pyruvatwerte aus 780 Viertelgemelksproben



Bei der Untersuchung dieser Proben auf den Gehalt an somatischen Zellen wurden Zellgehalte zwischen 5×10^3 /ml und 3×10^6 /ml festgestellt. Der geometrische Mittelwert lag bei 74×10^3 /ml. Bei 87 % der Proben war der Zellgehalt kleiner als 500×10^3 Zellen/ml, bei 7 % lag er zwischen 500×10^3 und 10^6 /ml und nur bei 6 % war er größer als 10^6 Zellen/ml. Die Häufigkeitsverteilung der Zellzahlen ist der Abbildung 8 zu entnehmen.

Abbildung 8: Häufigkeitsverteilung der Zellzahlen aus 780 Viertelgemeklsproben (logarithmische Darstellung)



Wie aus dem Kurvenverlauf in Abbildung 8 ersichtlich ist, tritt die maximale Häufung der Proben bereits in einem Zellzahlbereich von 10×10^3 Zellen/ml auf. Mit steigenden Zellgehalten sinkt die Häufigkeit der Zellbefunde dann allmählich ab. (Werte über 2 Millionen/ml sind wegen der geringen Probenzahlen in den einzelnen Zellzahlklassen nicht mehr aufgeführt).

Die Beziehungen zwischen dem Pyruvat- und dem Zellgehalt bei Einteilung der Zellzahlen in neun Klassen sind in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Pyruvatgehalt von 780 Viertelgemelksproben bei Einteilung in 9 Zellzahlklassen

Zellzahlbereich in $10^3/\text{ml}$	n	Pyruvatgehalt ($\bar{x}_a$) in ppm	v (%)
≤ 20	216	0,15	67
>20 $\leq$ 50	141	0,19	79
>50 $\leq$ 100	122	0,30	113
>100 $\leq$ 300	147	0,58	155
>300 $\leq$ 500	54	1,11	127
>500 $\leq$ 800	45	1,93	118
>800 $\leq$ 1200	19	1,65	108
>1200 $\leq$ 2000	16	2,22	147
> 2000	20	2,46	117

In dieser Tabelle zeichnet sich mit zunehmenden Zellzahlbereichen die Tendenz eines gleichsinnigen, beinahe kontinuierlichen Anstiegs der Pyruvatmittelwerte ab. Trotz der teilweise erheblichen Streuung - ersichtlich an Variationskoeffizienten bis zu 155 % - um die Pyruvatmittelwerte hat die Höhe des Zellgehaltes in Bereichen bis zu 2×10^6 Zellen/ml einen deutlichen Einfluß auf den Pyruvatgehalt der Milch. Auch der Korrelationskoeffizient $r = +0,45$ läßt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von nur 0,1 % auf eine statistisch signifikante Beziehung zwischen den beiden Parametern schließen.

In Tabelle 13 sind die Pyruvatwerte der untersuchten Viertelgemelksproben in sieben Gruppen eingeteilt und der prozentualen Häufigkeit positiver bakteriologischer Befunde zugeordnet.

Tabelle 13: Beziehungen zwischen der Höhe des Pyruvatgehaltes und der prozentualen Häufigkeit positiver bakteriologischer Befunde in 780 Viertelgemelksproben

Pyruvatbereich in ppm	n	Anzahl bakteriologischer Befunde		
		negativ n	positiv n	Anteil in %
< 0,3	488	435	35	7,2
> 0,3 ≤ 0,5	115	90	25	21,7
> 0,5 ≤ 1,0	84	57	27	32,1
> 1,0 ≤ 1,5	29	10	19	65,5
> 1,5 ≤ 2,0	17	10	7	41,2
> 2,0 ≤ 3,0	12	7	5	41,7
> 3,0	35	12	23	65,7

Trotz der relativ geringen Probenzahlen in den einzelnen Gruppen zeigt sich, daß bei sehr niedrigem Pyruvatniveau nur wenig bakteriologisch positive Befunde zu erwarten sind, während in dieser Hinsicht bei höheren Pyruvatkonzentrationen ein größerer Prozentsatz anfällt. Man kann aber auch feststellen, daß im Pyruvatbereich zwischen 1,0 und 1,5 ppm euterpathogene Mikroorganismen in der gleichen Häufigkeit nachgewiesen werden können wie in Pyruvatbereichen über 3,0 ppm, nämlich in jeweils ca. 65 % der Fälle. Bei einem Pyruvatniveau von 1,5 bis 2,0 bzw. 2,0 bis 3,0 waren nur jeweils ca. 41 % der Proben als bakteriologisch positiv einzustufen.

Um den Einfluß der verschiedenen euterpathogenen Mikroorganismen auf den Pyruvatgehalt von Viertelgemelksproben zu ermitteln, wurden alle Proben, in denen Streptokokken, Mikrokokken, Staphylokokken bzw. Mischinfektionen der drei Keimarten als Mastitisursache festgestellt waren, zusammengefaßt und jeweils der mittlere Pyruvatgehalt dieser Proben errechnet. Diesen Befunden wurden die bakte-

riologisch negativen Proben gegenübergestellt (Tabelle 14).

Tabelle 14: Mittlerer Pyruvatgehalt ($\bar{x}_a$) der Viertelgemelksproben beim Vorliegen verschiedener bakteriologischer Befunde

Keimgattung	n	Pyruvatgehalt ($\bar{x}_a$) in ppm	v %
Staph. aureus	17	2,65	135
Mikrokokken	49	1,55	157
Streptokokken	35	0,99	100
Mischinfektion	34	0,92	133
Bakteriologisch negativ	639	0,36	200

Die arithmetischen Mittelwerte des Pyruvatgehaltes sind beim Nachweis von Streptokokken (0,99 ppm) und Mikrokokken (1,55 ppm), aber auch beim Vorliegen von Mischinfektionen (0,92 ppm) deutlich höher als im bakteriologisch negativen Material (0,36 ppm). Innerhalb der Familie der Micrococcaceae hat wiederum der koagulasepositive Stamm *Staphylococcus aureus* mit 2,65 ppm den weitaus höchsten Mittelwert. Die Variationskoeffizienten der Pyruvatwerte sind sowohl bei den vier bakteriologisch positiven Befunden, als auch in den bakteriologisch negativen Proben mit 100 bis 200 % sehr hoch.

Unter gleichzeitiger Berücksichtigung beider Mastitiskriterien, d.h. der zytologischen und bakteriologischen Befunde, ergeben sich die in Tabelle 15 zusammengestellten Pyruvatmittelwerte und Variationskoeffizienten.

Milchproben aus gesunden Eutervierteln weisen im Durchschnitt einen sehr geringen Pyruvatgehalt (0,31 ppm) auf. Subklinische Mastitiden führen dagegen je nach Schwere der Erkrankung zu einem kontinuierlichen Ansteigen der Pyruvatmittelwerte, wobei durchschnittlich 2,16 ppm in Viertelgemelksproben aus spezifisch infizierten Euter-

Tabelle 15: Mittlerer Pyruvatgehalt bei unterschiedlichem Euter-
gesundheitsstatus

Diagnose *	Pyruvatgehalt (ppm)	
	$\bar{x}_a$	v %
eutergesund	0,31	177
latent infiziert	0,80	154
unspez. Mastitis	1,62	129
spez. Mastitis	2,16	123

* Nach Empfehlungen der IDF (1971).

vierteln nachgewiesen werden können. Variationskoeffizienten zwischen 123 und 177 % lassen allerdings eine außerordentlich große Streuung erkennen.

4.4. Ergebnisse der ergänzenden Untersuchungen zum Pyruvatgehalt in Blutserum und Viertelgemelksproben

In 59 Viertelgemelksproben aus dieser Untersuchungsreihe reichten die Pyruvatwerte von 0,4 bis 16,0 ppm. Der Mittelwert war mit 3,13 ppm relativ hoch. In den Serumproben der 15 Kühe konnten Pyruvatwerte von 3,5 ppm bis 9,1 ppm gemessen werden; im Mittel waren es 6,68 ppm. In 55 dieser Viertelgemelksproben (93,3 %) war der Pyruvatgehalt geringer als in den entsprechenden Serumproben. Nur bei 4 Proben überstieg die Pyruvatkonzentration der Milch den dazugehörigen Gehalt des Serums (Tabelle 16).

Auffallend an diesen 4 bakteriologisch positiven Viertelgemelksproben ist, daß die sehr hohen Pyruvatkonzentrationen (bis zu 16,0 ppm) mit stark erhöhten Zellgehalten (bis zu 16 Millionen Zellen/ml) einhergehen.

Tabelle 16: Pyruvatgehalt aus 4 Viertelgemelksproben mit zytobakteriologischem Befund im Vergleich zur Serumpyruvatkonzentration

Bakteriologischer Befund	Zellgehalt ($\times 10^6/\text{ml}$)	Pyruvatgehalt (ppm)	
		der Milch	im Serum
Staph. aureus	16	16,0	9,0
Staph. aureus/ Aesc. posit. Sc.	10	13,0	9,1
Aesc. posit. Sc.	6,8	12,0	6,5
Staph. Aureus	7,0	10,4	7,0

5. Diskussion

Die bakteriologische Beschaffenheit ist ein wesentliches Qualitätskriterium für Rohmilch, wobei die mikrobielle Kontamination dieses Lebensmittels unter dem Gesichtspunkt des gesundheitlichen Risikos für den Verbraucher und des technologischen Risikos für die Milchwirtschaft gesehen wird. Allerdings werden durch die Erhitzungsverfahren in den Molkereien bis auf einige Thermoresistente die Kontaminationskeime - vor allem auch alle pathogenen Mikroorganismen - abgetötet, so daß zumindest bei Rohmilch mit Keimzahlen um 10 Millionen pro ml in beiderlei Hinsicht im allgemeinen keine Gefahr besteht (KANDLER, 1964 III; BUSSE, 1971). Unter dem Aspekt der Lagerfähigkeit von Rohmilch ergeben sich jedoch andere Verhältnisse. Eine zwei- oder mehrtägige Rohmilchlagerung - und nur dadurch kann eine spürbare Rationalisierung der Milchanlieferung erreicht werden (BUSSE, 1965) - setzt vor allem wegen der sich auch unter Kühlbedingungen entwickelnden psychrotrophen Bakterienflora wesentlich niedrigere Keimzahlen

voraus (SWARTLING, 1967; BUSSE, 1971). Mit den heute noch in großen Teilen der Bundesrepublik im Rahmen der Gütebezahlung gebräuchlichen Reduktionsproben ist es bei den gegenwärtigen Produktionsbedingungen nicht mehr möglich, die bakteriologische Qualität der Anlieferungsmilch mit hinreichender Zuverlässigkeit zu ermitteln (BUSSE, 1965; BEYER, 1967; TOLLE, ZEIDLER und HEESCHEN, 1966). Da Mängel bei der Gewinnung und Lagerung der Milch im Erzeugerbetrieb oft nicht mehr festzustellen sind, ist mit diesen Kontrollverfahren eine weitere Anhebung der Rohmilchqualität nicht zu erwarten (LIMMER und WÖBBECKE, 1972b). Angesichts der Schwierigkeiten, repräsentative und unverfälschte Proben zu entnehmen und den mikrobiellen Status der Rohmilch über 48 Stunden hinaus zu konservieren, ist die allgemeine Einführung der automatisierten Keimzählverfahren derzeit nicht zu befürworten (HEESCHEN, SUHREN und TOLLE, 1977b; BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG, 1978). Als Alternative bietet sich die erstmals von TOLLE et al. (1972) vorgeschlagene Messung des Pyruvatgehaltes an, die inzwischen auch von anderen Autoren auf ihre Eignung zur Bestimmung der bakteriologisch-hygienischen Wertigkeit von Rohmilch untersucht und nicht nur positiv beurteilt wurde (WIESNER, 1975; ELBERTZHAGEN, 1977; BUSSE, 1977; ZANDSTRA und de VRIES, 1977; UNGLAUB, LUBENOW und GERLACH, 1978).

Mit der vorliegenden Arbeit sollten über einige strittige Fragen weitere Aufschlüsse erhalten werden, wozu Anlieferungsmilchproben, Tupferproben von den Melkgerätschaften, Viertelgemelksproben und einige Blutproben laktierender Kühe untersucht wurden. Ziel dieser Untersuchungen war eine Statuserhebung zum Pyruvatgehalt von Anlieferungsmilch, um etwaige Einflüsse der Gesamtkeimzahl bzw. des Zellgehaltes auf die Pyruvatkonzentration von Anlieferungsmilch zu erkennen. Danach wurde geprüft, ob ein Einfluß der Hygiene bei der Milchproduktion auf den Pyruvatgehalt der Rohmilch besteht. Schließlich wurden Untersuchungen zum Einfluß von Eutergesund-

heitsstörungen auf den Pyruvatgehalt von Viertelgemelken vorgenommen.

In der ersten Versuchsreihe wurden 1971 Anlieferungsmilchproben auf Pyruvatgehalt und somatische Zellen untersucht. Der Pyruvatgehalt der Proben lag im arithmetischen Mittel bei 1,03 ppm mit einem Variationskoeffizienten von 63 %. Minimal wurden 0,1 ppm und maximal 6,3 ppm Pyruvat festgestellt. Diese Untersuchungsergebnisse stimmen nicht mit den von HEESCHEN, SUHREN und TOLLE (1977b) in Rohmilch auf der Erzeugerebene ermittelten Pyruvatwerten überein, die im arithmetischen Mittel bei 1,6 ppm lagen und einen Variationskoeffizienten von 55 % aufwiesen. Dementsprechend liegen auch in diesem Probenmaterial die Kennwerte der Summenprozentverteilung auf der 10-, 50- und 90%-Ebene bei 0,8 ppm, 1,4 ppm und 2,5 ppm Pyruvat im Gegensatz zu denjenigen aus den eigenen Untersuchungen, die auf den genannten Ebenen bei 0,4 ppm, 0,9 ppm und 1,8 ppm liegen. Auch BRUNS (1976) kommt bei der Analyse von 1109 Proben aus einmal täglich angelieferter Rohmilch bei einer Variationsbreite von 0,26 ppm bis 4,89 ppm Pyruvat zu einer anderen Verteilung der Pyruvatwerte. In seinen Ergebnissen fanden sich ca. 1 % der Proben unter 0,5 ppm, 32 % unter 1,0 ppm und 6 % bei 2,0 ppm Pyruvat und darüber; in den eigenen Untersuchungen wurden dagegen bei 13,5 % der Proben Pyruvatwerte unter 0,5 ppm, bei 61 % unter 1,0 ppm und bei 7,2 % Werte von 2,0 ppm und darüber festgestellt (Abbildung 2). Diese in den eigenen Untersuchungen ermittelte Häufigkeitsverteilung entspricht etwa der von KELLER (1977) in 1435 Rohmilchproben gefundenen Verteilung der Pyruvatwerte, nach der ebenfalls in 14,8 % der Proben Werte unterhalb des von HEESCHEN et al. (1974) angegebenen physiologischen Basiswertes von 0,5 ppm gemessen wurden.

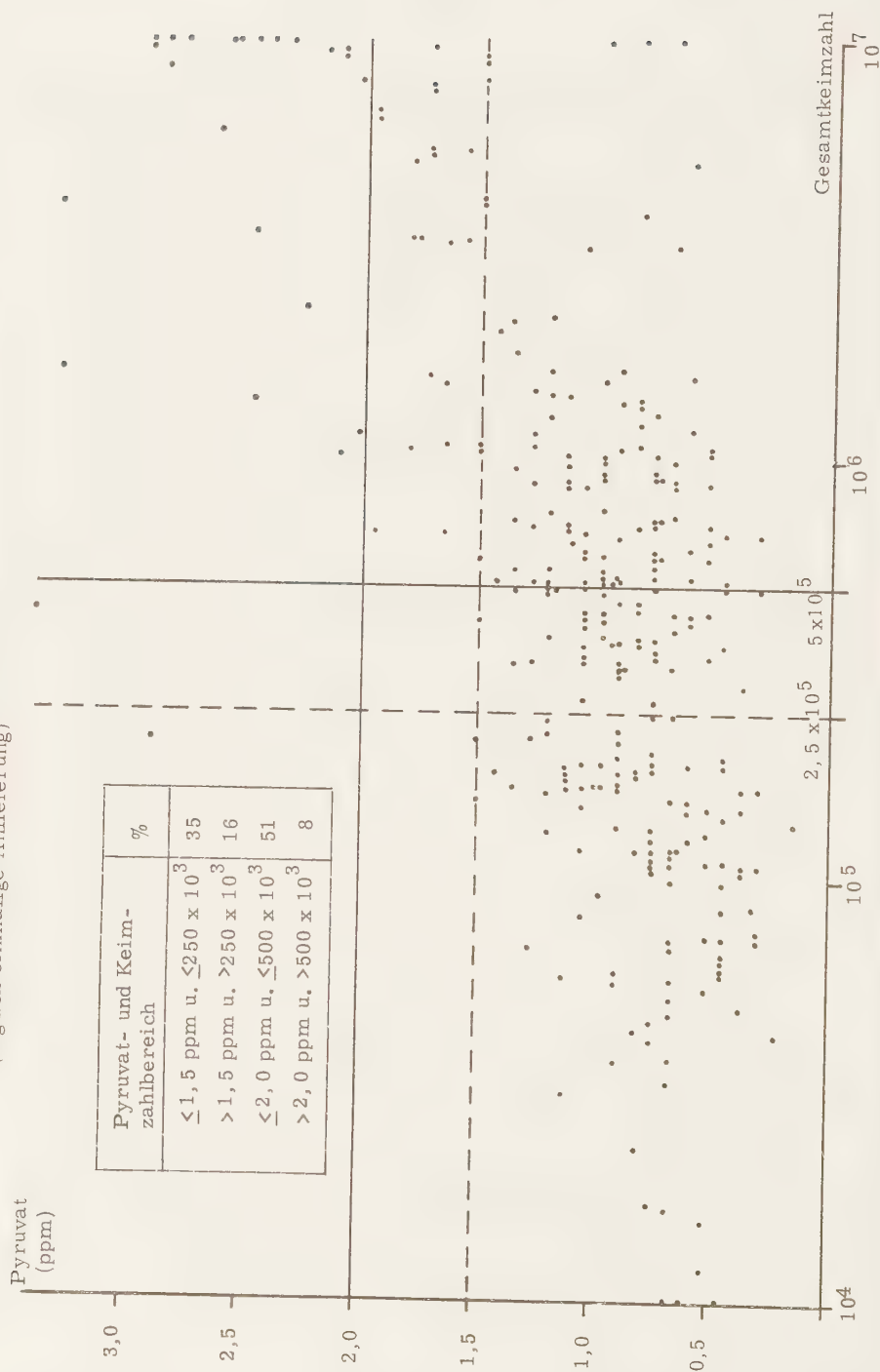
Der in den eigenen Untersuchungen relativ hohe Anteil an Proben mit Pyruvatgehalten unter 0,5 ppm kann dadurch erklärt werden, daß nach eigenen Statuserhebungen an 611 Milchproben aus gesunden Euter-

vierteln ein Basiswert von 0,31 ppm Pyruvat errechnet wurde (Tabelle 15). Eventuell sind hier Rassenunterschiede zu berücksichtigen, wie das hinsichtlich des normalen Zellgehaltes der Milch schon längere Zeit bekannt ist (KLEINSCHROTH, REICHMUTH und ZEIDLER, 1969). Denn - wie eingangs erwähnt - die eigenen Basiswertuntersuchungen zum Pyruvatgehalt in Milch wurden ausschließlich an Kühen der Rasse "Deutsches Fleckvieh" durchgeführt, während der von HEESCHEN et al. (1974) ermittelte Pyruvatbasiswert für Kühe der Rasse "Deutsche Schwarzbunte" gilt.

Die Einhaltung unterschiedlicher Probenahmeintervalle (einmal wöchentlich bzw. täglich) zeigte wesentlich geringer variierende Pyruvatwerte bei täglicher Pyruvatbestimmung als bei nur wöchentlicher (Tabelle 5 und 6). Daraus kann für die Durchführung der Pyruvatmethode in der Praxis der Gütebewertung von Anlieferungsmilch gefolgert werden, daß möglichst häufige Probenahmen stattfinden müssen, damit eine gerechte Beurteilung ermöglicht wird. Die Gefahr, daß zufällig auftretende höhere bzw. niedrigere Pyruvatwerte die Güte-einstufung zu stark beeinflussen, dürfte mit längeren Probenahmeintervallen wesentlich zunehmen.

Die in 292 Anlieferungsmilchproben festgestellten Gesamtkeimzahlen lagen zwischen $8,6 \times 10^3$ und $57,5 \times 10^6$ Keimen/ml. Im geometrischen Mittel waren es $445,5 \times 10^3$ /ml. Bei der statistischen Verrechnung der Gesamtkeimzahlen und der in den gleichen Proben ermittelten Pyruvatwerte wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = +0,58$ festgestellt. Damit kommt eine deutliche Abhängigkeit der beiden Parameter zum Ausdruck. Betrachtet man jedoch die Ergebnisse der Keimzählung und der Pyruvatbestimmung individuell für jede Einzelprobe, wird ersichtlich, daß sich bei einem hohen Prozentsatz der Proben erhebliche Differenzen zwischen den Beurteilungen nach beiden Methoden ergeben. Entsprechend der Abbildung 9, in der die Pyruvatwerte und die Gesamtkeimzahlen für jede Probe

Abbildung 9: Pyruvatgehalt und Gesamtkeimzahl in 292 Anlieferungsmilchproben
(täglich einmalige Anlieferung)



einzelnen eingezeichnet sind, erhält man 59 % übereinstimmende Beurteilungen (51 % für die gute Qualität und 8 % für die mindere Qualität), wenn Grenzwerte von 2,0 ppm Pyruvat und 500×10^3 Keimen/ml zugrunde gelegt werden. Der mit 41 % sehr hohe Anteil abweichender Beurteilungen wird beinahe ausschließlich durch solche Milchproben bedingt, die zwar einen niedrigen Pyruvatwert haben, jedoch in ihrer Keimzahl den gewählten Grenzwert von 500×10^3 Keimen/ml überschreiten. Werden die Grenzwerte auf 1,5 ppm Pyruvat und 250×10^3 Keimen/ml gesenkt, stimmen nur noch 51 % aller Beurteilungen überein. Auch hier sind die Abweichungen - bis auf eine Ausnahme - bei Proben zu registrieren, die aufgrund ihres Pyruvatgehaltes in die gute Qualität einzugruppieren wären, aufgrund ihrer Keimzahl von mehr als 250×10^3 /ml jedoch in die schlechte Kategorie gehören. Aus einer ähnlichen Darstellung der Beziehungen zwischen Gesamtkeimzahlen und Pyruvatwerten von BRUNS (1976) - bei ihm entsprechen allerdings die Punkte einem Mittelwert aus 4 Einzelmessungen - ist ebenfalls zu entnehmen, daß bei Grenzwerten von 1,5 ppm Pyruvat und 10^6 Keimen/ml 23 % aller untersuchten Proben abweichend eingestuft werden. Etwa 40 % dieser abweichenden Beurteilungen zeigen Keimzahlen von über 1 Million Keimen/ml bei Pyruvatwerten unter 1,5 ppm. Damit würde die Bewertung der Anlieferungsmilch nach dem Pyruvatgehalt auch hier dazu führen, daß ein Teil der stark keimhaltigen Milchchargen - in den eigenen Untersuchungen sind es 41 % bzw. 49 % der Proben - ohne Beanstandung bleiben würde. Weniger häufig tritt dagegen der Fall auf, daß die Milcherzeuger mit dem Pyruvatsystem Benachteiligungen hinnehmen müßten, obwohl dies nach BRUNS (1976) bei 14 % der von ihm untersuchten Proben zuträfe.

In den untersuchten 1971 Anlieferungsmilchproben konnten Zellgehalte von 10×10^3 bis 3×10^6 Zellen/ml ermittelt werden. Im geometrischen Mittel waren es 241×10^3 Zellen/ml. Die Häufigkeitsverteilung entspricht fast derjenigen von TOLLE et al. (1968), jedoch wurde von diesen Autoren ein rassebedingt höherer Mittelwert von 326×10^3 Zel-

len/ml festgestellt. Bei der statistischen Auswertung der in diesen Anlieferungsmilchproben gemessenen Zellzahl- und Pyruvatwerte wurde ein relativ niedriger Korrelationskoeffizient von $r = +0,19$ zwischen den Parametern errechnet. Bei dem Umfang von nahezu 2000 Proben dokumentiert dieser Wert jedoch schon eine signifikante Beziehung zwischen Zellzahl und Pyruvatgehalt der Milch. Wie auch Tabelle 7 zeigt, ist somit in Anlieferungsmilch bei steigender Zellzahl mit einem erhöhten Pyruvatgehalt zu rechnen. Dies gilt sowohl für niedrige als auch höhere Zellzahlbereiche. WERNERY (1972) hingegen ist der Auffassung, daß ein Einfluß der Zellzahl auf den Pyruvatgehalt der Rohmilch nur in Bereichen von mehr als 3 Millionen Zellen/ml gegeben ist.

Der Zusammenhang zwischen dem Zellgehalt und der Pyruvatkonzentration in Rohmilch wurde in einem weiteren Abschnitt der eigenen Untersuchungen bestätigt. Hierzu wurden 780 Viertelgemelksproben zytobakteriologisch untersucht und ebenfalls der Pyruvatgehalt dieser Milchen bestimmt. Wie aus Tabelle 12 hervorgeht, enthielten Viertelgemelksproben mit weniger als 20×10^3 Zellen/ml im Mittel nur 0,15 ppm Pyruvat, während solche mit über 2×10^6 Zellen/ml einen Pyruvatmittelwert von 2,46 ppm aufwiesen. Die Pyruvatmittelwerte der Proben in den verschiedenen Zellzahlbereichen lassen demnach bei den Viertelgemelksproben wesentlich stärkere Unterschiede erkennen als bei den Anlieferungsmilchproben (Tabelle 7). Auch durch den Korrelationskoeffizienten $r = +0,45$ wird für die Viertelgemelksproben eine relativ enge Beziehung zwischen den Parametern Zellzahl und Pyruvatgehalt deutlich, wie sie auch von BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG (1978) festgestellt wurde. Aufgrund der bis 155 % reichenden Variationskoeffizienten der Pyruvatmittelwerte kann die Verwendung des Pyruvatgehaltes als Analogparameter für die Zellzahl in Viertelgemelksproben jedoch ausgeschlossen werden.

Derartig hohe Variationskoeffizienten für die Pyruvatwerte gelten auch bei der gesonderten Berücksichtigung spezieller bakteriologischer Befunde, wie z.B. *Staphylococcus aureus* enthaltende Viertelgemelksproben, die im Mittel 2,65 ppm Pyruvat aufwiesen, wobei die Werte jedoch um 135 % um den Mittelwert streuen. Selbst bei bakteriologisch negativen Befunden wurde ein Variationskoeffizient von 200 % festgestellt. Damit ist es auch nicht möglich, über den Pyruvatgehalt der Viertelgemelksproben auf bestimmte Infektionserreger zu schließen.

Ordnet man die Viertelgemelksproben entsprechend ihrem zytobakteriologischen Befund (Empfehlungen der IDF, 1971) und errechnet den Pyruvatgehalt für gesunde und latent infizierte Euterviertel bzw. für Viertel, die mit einer unspezifischen oder spezifischen Mastitis behaftet sind, so wird wiederum folgendes deutlich: Mit Zunahme des Erkrankungsgrades von Eutervierteln steigt der durchschnittliche Pyruvatgehalt der Viertelgemelksproben an. Dabei wurde in Milchproben aus eutergesunden Vierteln ein Wert von 0,31 ppm Pyruvat, aus latent infizierten Vierteln ein solcher von 0,81 ppm, aus Vierteln mit einer unspezifischen Mastitis ein solcher von 1,62 ppm und schließlich aus Vierteln, in denen eine spezifische Euterentzündung diagnostiziert werden konnte, mit 2,16 ppm Pyruvat ein sehr hoher Wert gemessen. Allerdings muß auch hier wieder auf die sehr hohen Variationskoeffizienten (bis 177 %) hingewiesen werden, die den Parameter Pyruvat im Rahmen der Diagnostik von Eutergesundheitsstörungen als nicht verwendbar erscheinen lassen. Zu gleichen Ergebnissen kamen in diesem Zusammenhang auch BECK (1977) und TERPLAN und GROVE (1977).

Um der Ursache der beim Vorliegen von Eutergesundheitsstörungen erhöhten Pyruvatwerte in Viertelgemelksproben nachzugehen, wurden neben Milchproben auch die Blutproben von 15 zur Schlachtung bestimmten Kühen auf ihren Pyruvatgehalt untersucht. Die Probenahme

erfolgte mit mindestens sechs Stunden Zeitabstand zum letzten Melken. Es konnte festgestellt werden, daß in fast 94 % der Viertelgemelksproben ein geringerer Pyruvatwert vorlag als im Blutserum der zugehörigen Kühe. Nur in insgesamt vier von 59 Viertelgemelksproben überstieg der Pyruvatgehalt den entsprechenden Blutserumwert (Tabelle 16). Die Differenzwerte bewegten sich dabei zwischen 3,4 ppm und 7 ppm. Bei diesen vier Proben wurden jedoch gleichzeitig mit ca. 7×10^6 bis 16×10^6 Zellen pro ml überaus hohe Zellgehalte ermittelt. Aus diesen Untersuchungsergebnissen - 77 % aller Viertelgemelksproben ließen Eutergesundheitsstörungen erkennen - ergibt sich die Vermutung, daß durch erhöhte Gefäßdurchlässigkeit im Eutergewebe bei Mastitiden analog zu anderen Blutbestandteilen auch der vermehrte Übertritt von Pyruvat aus dem Blut in die Milch möglich wird. Pyruvatkonzentrationen, die höher als die entsprechenden Blutserumwerte liegen, kommen in Viertelgemelksproben nur selten vor und dürften durch die gleichzeitig feststellbare Zellgehaltserhöhung bedingt sein.

Die Untersuchungen zum Einfluß der Betriebshygiene auf den Pyruvatgehalt der Sammelmilch in zwölf Milcherzeugerbetrieben führten zu folgendem Ergebnis: Während in sechs Erzeugerbetrieben über den Nachweis der coliformen Keime und in vier Betrieben über die Bestimmung der Gesamtkeimzahl aus Tupferproben (Zitzenbecher, Melkeimer und Hoftank) sowie korrespondierend dazu aus der Sammelmilch erhebliche Mängel in der Reinigung und Desinfektion der Melkgerätschaften ermittelt wurden, hätte aufgrund des Pyruvatgehaltes der Sammelmilch eine Beanstandung der Milchhygiene nur in zwei Betrieben ausgesprochen werden können (Tabellen 10 und 11). In diesen zwei Betrieben lag der Pyruvatgehalt der Sammelmilch mit 1,6 ppm bzw. 1,9 ppm relativ hoch. Die restlichen fünf der hinsichtlich der Hygiene der Milchgewinnung zu beanstandenden Betriebe produzierten jedoch Milch mit weniger als 1,0 ppm Pyruvat. Damit kann in der Tendenz gezeigt werden, daß nur bei sehr hohen Pyruvatkon-

zentrationen in der Betriebssammelmilch auf Mängel in der Hygiene der Melkgerätschaften geschlossen werden kann. Die Umkehrung dieser Schlußfolgerung ist jedoch nicht möglich: Denn, obwohl Mängel in der Betriebshygiene vorliegen können, bleibt der Pyruvatgehalt der Sammelmilch größtenteils gering. Damit besteht keine Möglichkeit, den Pyruvatgehalt der Sammelmilch als Indikator für die Hygiene der Melkgerätschaften heranzuziehen. Weitere Untersuchungen zu diesem Problem sind jedoch wünschenswert, zumal der Umfang der eigenen Untersuchungen für eine endgültige Aussage nicht ausreicht. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen beobachteten BEYER, SPRINGMEYER und MAIR-WALDBURG (1978) in Untersuchungen an einer Gruppe von neun Milchlieferanten, daß der Pyruvatgehalt der Betriebssammelmilch nach Abstellen hygienischer Mängel bei der Milchproduktion korrespondierend mit der Gesamtkeimzahl gesenkt werden konnte. Dieser Widerspruch kann auch nur scheinbar sein, wenn in den betreffenden Betrieben - speziell unter Berücksichtigung der Kühlung - andere Verhältnisse als in den eigenen Untersuchungen vorliegen. Weitgehende Übereinstimmung besteht dagegen mit BRUNS (1976), der ähnlich wie in unseren Untersuchungen in etwa einem Drittel der von ihm einbezogenen Betriebe keine engen Beziehungen zwischen der Höhe des Pyruvatwertes und der nach sinnfälligen Mängeln beurteilten Produktionshygiene feststellte.

Aus den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich hinsichtlich einer Einführung der Pyruvatmethode in die Gütebewertung der Anlieferungsmilch folgende Stellungnahme: Trotz eines eindeutigen statistischen Zusammenhanges sowohl zwischen Pyruvatgehalt und Zellzahl als auch zwischen Pyruvatgehalt und bakteriologischem Befund (Mastitiserreger) kann der Parameter Pyruvat aufgrund der sehr großen Variationsbreite nicht in der Mastitisiagnostik eingesetzt werden. Auch nach Ansicht anderer Autoren (BECK, 1977; TERPLAN und GROVE, 1977) können sich aufgrund erhöhter Pyruvatgehalte der Milch nur Anhaltspunkte für Störungen der Eutergesundheit ergeben.

Da der Zellgehalt ohnehin als Kriterium in die Gütebewertung eingehen soll, ist dieser Zusammenhang auch unbeachtlich.

Aus dem Vergleich des Keimzählverfahrens (Zählung koloniebildender Einheiten) mit der Methode der Pyruvatbestimmung im Hinblick auf die Bewertung der bakteriologischen Beschaffenheit von Rohmilch resultiert, daß wegen der geringen Differenzierungsmöglichkeit der Pyruvatwerte im wesentlichen Keimzahlbereich zwischen 10^5 und 10^6 Keimen/ml der Einsatz von Keimzählverfahren vorzuziehen wäre. Auf diese Tatsache haben bereits WERNERY (1972), BRUNS (1976) und ELBERTZHAGEN (1977) hingewiesen. Darüber hinaus würde bei den z.T. erheblichen Abweichungen zwischen Beurteilungen nach der Gesamtkeimzahl und dem Pyruvatgehalt ein nicht geringer Anteil stark keimhaltiger Anlieferungsmilchen unbeanstandet bleiben. Damit würde aber der Parameter Pyruvat der Forderung des § 10 des Milch- und Fettgesetzes, zur Förderung und Erhaltung der Güte von Milch beizutragen, nicht voll entsprechen. Diese Tatsache wird auch durch die Ergebnisse aus der zweiten Versuchsreihe über den Zusammenhang des Pyruvatgehaltes und der Milchgewinnungshygiene bestätigt, in der von insgesamt sieben Milcherzeugerbetrieben mit teilweise gravierenden Mängeln der Produktionshygiene durch die Bestimmung des Pyruvatgehaltes in der Sammelmilch nur zwei Betriebe ermittelt werden konnten.

Schließlich ist aus den Ergebnissen der Zeitreihenuntersuchungen abzuleiten, daß im Sinne einer gerechten Qualitätsbeurteilung der Anlieferungsmilch wegen der bei verlängertem Untersuchungsintervall sich vergrößernden Variationsbreite eine möglichst häufige Pyruvatanalyse durchgeführt werden müßte. Als optimal wäre eine zwei- bis dreimalige Pyruvatbestimmung pro Woche anzusehen. Um die Kosten des Pyruvatbeurteilungsverfahrens durch derart häufige Probenahmen nicht zu sehr zu belasten, wäre als Kompromiß die einmalige Pyruvatmessung pro Woche in jeder Anlieferungsmilch denkbar. Zumindest müßte mit jeder Fettbestimmung (3 mal im Monat) das Pyruvat erfaßt

werden. Insgesamt unterstreichen die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen zum Pyruvatgehalt in Rohmilch so viele Nachteile dieser Methode, daß sie zur Gütebewertung der Anlieferungsmilch nicht empfohlen werden kann.

6. Zusammenfassung

In 1971 Rohmilchbestandsproben (eintägige Anlieferung) wurden Pyruvatwerte zwischen 0,1 ppm und 6,3 ppm gemessen. Als Mittelwert wurden 1,03 ppm errechnet. 13,5 % der Proben hatten Pyruvatgehalte von weniger als 0,5 ppm und rund 93 % lagen unter 2,0 ppm. Die Zellgehalte dieser Anlieferungsmilchproben reichten von 10^4 /ml bis 3×10^6 Zellen/ml bei einem geometrischen Mittelwert von 241×10^3 Zellen/ml. Zellgehalte von weniger als 500×10^3 /ml hatten 81 % der Proben und Werte über 10^6 Zellen/ml wurden bei 5 % der Proben festgestellt.

Zwischen der Höhe der Pyruvatwerte und dem Grad der bakteriellen Kontamination wurde zwar ein deutlicher Zusammenhang ($r=+0,58$) festgestellt, der jedoch im Einzelfall nicht in dem Maße zutrifft. So wurden bei Anlegen von Grenzwerten von 2,0 ppm Pyruvat und 500×10^3 Keimen/ml 41 % bzw. bei Grenzwerten von 1,5 ppm Pyruvat und 250×10^3 Keimen/ml 49 % der Proben mit den beiden Verfahren abweichend beurteilt.

Eine genaue Einstufung der bakteriologischen Wertigkeit von Rohmilch in dem für die Bewertung der bakteriologischen Beschaffenheit wesentlichen Bereich von 10^5 bis 10^6 Keimen/ml ist mit Hilfe der Pyruvatbestimmung nicht möglich.

Da sich aus Zeitreihenversuchen die Tendenz zeigt, daß sich mit verlängertem Untersuchungsintervall die Variationsbreite und die Standardabweichungen der Pyruvatgehalte vergrößern, wäre eine zwei- bis dreimalige Analyse pro Woche optimal.

Auch die Tatsache, daß unter sieben Milcherzeugerbetrieben mit größtenteils schwerwiegenden Mängeln in der Hygiene der Milchgewinnung nur bei zweien dies auch im Pyruvatgehalt der Sammelmilch zum Ausdruck kommt, läßt diesen Parameter als Indikator für die Hygiene der Milchgewinnung wenig geeignet erscheinen.

Die Ergebnisse der Pyruvatmessung in Viertelgemelksproben und Blutserumproben von Schlachtkühen führen zu der Annahme, daß aufgrund der erhöhten Permeabilität der Blutgefäße beim Vorliegen von Eutergesundheitsstörungen ein direkter Übertritt von Pyruvat aus dem Blut in die Milch erfolgt. Eine Verwendung des Parameters Pyruvat zur Diagnostik von Eutergesundheitsstörungen kommt jedoch aufgrund der sehr hohen Variationskoeffizienten nicht in Betracht, obwohl zwischen dem Pyruvatgehalt und der Zellzahl sowie zwischen dem Pyruvatgehalt und dem Nachweis von Mastitiserregern deutliche Beziehungen ermittelt werden konnten.

Summary

1971 farm bulk milk samples were tested for their pyruvate content and their somatic cell content. Pyruvate concentrations were in the range of 0.1 ppm to 6.5 ppm. The mean value was $\bar{x}_a = 1.03$ ppm. In 13.5 % of the samples the pyruvate content was < 0.5 ppm, in 93 % < 2.0 ppm. The somatic cell count showed a minimum of 10^4 /ml and a maximum of 3×10^6 /ml, the mean value was $\bar{x}_g = 241 \times 10^3$ /ml. 81 % of the samples showed cell counts of $< 500 \times 10^3$ /ml, only 5 % of $> 10^6$ /ml.

Additionally to the pyruvate content the total colony counts of these samples were determined and a statistically significant correlation could be found between these two parameters ($r = +0.58$). A comparison of the individual results for pyruvate content and colony count respectively showed considerable differences: 41 % and 49 % of the samples respectively were ranged into different raw milk quality classes (using limits of 2.0 ppm and 500×10^3 colonies/ml or 1.5 ppm and 250×10^3 colonies/ml respectively).

Therefore - especially in the range from 10^5 to 10^6 colonies/ml which is the most important for farm bulk milk - the pyruvate content cannot reflect the microbiological quality of the raw milk. If nevertheless the pyruvate content should be determined in bulk milk and used as a parameter of microbiological quality, 2 or 3 samples of each dairy farm have to be tested per week, because the standard deviation would rise evidently, if samples in prolonged intervals are taken.

In dairy farms the hygiene of milk production was controlled and compared with the pyruvate content of the bulk milk. Only in 2 of 7 farms, with severe problems concerning milkhygiene, the pyruvate content of the bulk milk was very high. Therefore this parameter cannot be used as an indicator for hygienic properties of dairy farms.

From cows (delivered to the slaughter house) quarter milk samples and blood samples were taken, which were tested for the pyruvate content as well as for microbial and cell content (only milk samples). It can be supposed that on the basis of higher permeability of blood vessels in case of mastitis the direct transfer of pyruvate from the blood into the milk is possible. Though an obvious correlation could be detected between the pyruvate content of the quarter milk samples and the udder health, this parameter cannot be recommended as an indicator for udder diseases, because of its extremely high coefficient of variation.

7. Literaturverzeichnis

ABO-ELNAGA, I.G. (1966):

Veränderungen des Bakteriengehaltes während der Lagerung von Rohmilch bei verschiedenen Temperaturen.

Arch. Lebensmittelhyg. 17, 125 - 127

ANDREY, J. und W. C. FRAZIER (1959):

Psychrophiles in milk held two days in farm bulk cooling tanks.

J. Dairy Sci. 42, 1781 - 1784

ANTILA, V. und A.-L. KYLÄ-SIUROLA (1976):

Die Bestimmung der Milchqualität mit der Lactocult-Methode.

Milchwiss. 31, 8 - 13

AROLD, W. (1977):

Modelluntersuchungen zur Pyruvatbildung durch psychrotrophe Mikroorganismen.

Vet. med. Diss., München.

BECK, G. (1977):

Zur Mastitissituation in einem Hochleistungsbetrieb.

Arch. Lebensmittelhyg. 28, 91 - 92

BECKER, G. (1964):

Über die Haltbarkeitsdauer frisch ermolkenen Milch bei verschiedenen Kühltemperaturen.

Arch. Lebensmittelhyg. 15, 278 - 284

BEYER, F. (1967):

Auswirkungen der maschinellen Milchkühlung auf die Güte und Gütebewertung der Rohmilch.

Dtsch. Molk.-Ztg. 88, 1589 - 1592

BEYER, F., W. SPRINGMEYER und H. MAIR-WALDBURG (1978):
Versuche zur Anwendbarkeit der Pyruvatmessung für die Qualitäts-
kontrolle von Anlieferungsmilch in Bayern.

Dtsch. Molk.-Ztg. 99, 1048 - 1051

BIERL, H. (1979):

Vet. med. Diss., München,
in Vorbereitung

BOCKELMANN, I. von (1966):

Gesamtkeimzahl und psychrophile Bakterien in tiefgekühlter Milch.
Milchwiss. 21, 275-278

BRUNS, G. (1976):

Zur Eignung des Pyruvatpools als ein Kriterium zur Förderung und
Erhaltung der Güte eintägig angelieferter roher Vollmilch.
Vet. med. Diss., Hannover.

BUNDESANSTALT FÜR MILCHFORSCHUNG (1969):

Die hygienische Wertigkeit der Rohmilch und Empfehlungen zu
ihrer weiteren Verbesserung.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 21, 201 - 356

BUSSE, M. (1965):

Milchkühlung und Bakterienflora.

Dtsch. Molk.-Ztg. 86, 1777 - 1781

DERSELBE (1966):

Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung der bakteriolo-
gischen Qualität kühlgelagerter Milch.

Milchwiss. 21, 289 - 293

DERSELBE (1971):

Die Auswirkungen hoher Keimzahlen in Rohmilch.

Dtsch. Molk.-Ztg. 92, 39 - 43

DERSELBE (1977):

Grundlagen der Qualitätskontrolle mit der Pyruvatmethode.

Molk. Ztg. Welt d. Milch 31, 328 - 330 und 495 - 497

DEMETER, K.J. (1967):

Bakteriologische Untersuchungsmethoden in der Milchwirtschaft,

4. Aufl., Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.

DMK, DEUTSCHE KOMMISSION ZUR VEREINHEITLICHUNG DER
UNTERSUCHUNGSMETHODEN FÜR MILCH, MILCHPRODUKTE
UND MOLKEREIHILFSSTOFFE (1960):

Milchwiss. 15, 120 - 129

DIERNHOFER, K. (1950):

Diagnostik der Euterentzündungen.

Wiener Tierärztl. Mschr. 37, 809 - 866

DOBINSKY, E. (1955):

Über Milchinfectionen beim Maschinenmelken.

Dtsch. Milchwirtschaft 6, 276 - 278

DONNELLY, C.B., I.E. GILCHRIST, I.T. PEELER und I.E. CAMPBELL
(1976):

Spiral plate count method for the examination of raw and pasteurized milk,
Applied and environmental microbiology 32, 21 - 27

DORNER, W. (1955):

Allgemeine und milchwirtschaftliche Mikrobiologie.

Verlag Huber und Co., Frauenfeld,

zit. nach: SCHÖNHERR, W. (1967).

ELBERTZHAGEN, H. (1977):

Übersicht über die Pyruvatmethode.

Molk. Ztg. Welt d. Milch 31, 1557 - 1564

ELBERTZHAGEN, H. und F. MENNINGER (1977):

Über die Pyruvatbildung der Rohmilchbakterienflora bei niedrigen
und hohen Ausgangskeimzahlen und Pyruvatkonzentrationen.

Dtsch. Molk.-Ztg. 31, 326 - 329

FORSYTH, E. (1962):

THESIS, Univ. of Wisconsin.

zit. nach: THOMAS, S.B. und B.F. THOMAS (1974).

GÖTZE, U. (1959):

Beobachtungen und Untersuchungen beim Einsatz von fahrbaren Gemeinschaftsmelkanlagen.

Vet. med. Diss., Berlin.

GRÜN, L. (1969):

Herkunft und Wirkung von *Ps. pyocyanea* in der Milch.

Milchwiss. 24, 14 - 16

HACKENSCHMIED, W. (1978):

Pyruvatmessung im Zusammenhang mit der Gütebezahlung der Milch.

Dtsch. Molk.-Ztg. 99, 620 - 624

HANKIN, L. und W.F. DILLMAN (1968):

A rapid test to find "Potentially" psychrophilic organisms in pasteurized dairy products.

J. Milk Fd. Techn. 31, 141 - 145 und 165 - 170

HARTLEY, J.C., G.W. REINBOLD, E.K. VEDAMUTHU und W.S. CLARK (JR) (1968):

Bacterial test results of grade - A raw milk samples as a measure of farm production conditions.

J. Milk Fd. Techn. 31, 388 - 392

HEESCHEN, W., J. REICHMUTH, A. TOLLE und H. ZEIDLER (1969):

Die Konservierung von Milchproben zur bakteriologischen, zytologischen und hemmstoffbiologischen Untersuchung.

Milchwiss. 24, 729 - 734

HEESCHEN, W., A. TOLLE, H. WERNERY und J. REICHMUTH (1972a):

Determination of metabolites of bacterial activity in milk.

Technicon International Congress 1972.

Advances in Automated Analysis 7, 5 - 14

HEESCHEN, W., A. TOLLE, J. REICHMUTH und H. ZEIDLER (1972b):

Die automatisierte Zählung somatischer Zellen der Milch in der kontinuierlichen Durchflußanalyse.

Milchwiss. 27, 745 - 749

HEESCHEN, W., H. WERNERY, G. SUHREN und A. TOLLE (1974):

Zur automatisierten Messung von Fett, somatischen Zellen und Pyruvat in Milch mit Hilfe der kontinuierlichen Durchflußanalyse.

Milchwiss. 29, 394 - 402

HEESCHEN, W., G. SUHREN und A. TOLLE (1977a):

Pyruvatmessung in Milch und Konzept eines Systems zur Erfassung der bakteriologischen Beschaffenheit.

Molk. Ztg. Welt d. Milch 31, 489 - 494

HEESCHEN, W., G. SUHREN und A. TOLLE (1977b):

Bakteriologische Beschaffenheit der Rohmilch - Untersuchungsverfahren, Situationen und Bewertung.

Dtsch. Milchwirtschaft 28, 1748 - 1763

HIGGINBOTTOM, C., S.M. JONES und M. TAYLOR (1964):

The influence of a change in farm dairy practise on the bacterial flora of fresh and stored raw milk.

J. Appl. Bact. 27, 385 - 391

HORNBOGEN, F. (1963):

Reduktaseprobe bei Vorzugsmilch.

Dtsch. Molk.-Ztg. 84, 1593

INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND (1958):

Bestimmung des Keimgehaltes von flüssiger und getrockneter Milch "Standard 3".

Milchwiss. 16, 650 - 652

IDF, INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1971):

A monograph on bovine mastitis - Part I.

Annual Bull., 3 - 5

INSTITUT FÜR HYGIENE DER BUNDESANSTALT FÜR MILCH-
FORSCHUNG (1976):

Zwischenbericht des Forschungsauftrages "Untersuchungen zur Eig-
nung von Pyruvatmessungen als Qualitätsparameter der Anlieferungs-
milch".

KANDLER, O. (1964 III):

Keimgehalt der Anlieferungsmilch und die Qualität der Molkereipro-
dukte. III. Mitt.: Überlegungen zur Auswahl der bakteriologischen
Prüfmethode und zum Ausbau der Qualitätskontrolle.

Dtsch. Molk.-Ztg. 85, 352 - 358

KARLSON, P. (1967):

Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissen-
schaftler, 6. Auflage.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

KÄSTLI, P. (1963):

Milchkunde und Milchhygiene, Bd. II, Milchfehler.

Buchverlag Verbandsdruckerei AG, Bern.

zit. nach: TERPLAN, G. und H.-U. WIESNER (1971).

KELLER, M. (1977):

Das Problem der Definition der Haltbarkeit der Milch.

Dtsch. Milchwirtschaft 28, 510 - 513

KIELWEIN, G., H. JOHNE und R. GERLACH (1969):

Untersuchungen über einige milchhygienisch bedeutungsvolle Eigen-
schaften von Pseudomonaden und Aeromonaden.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 55 - 61

KIERMEIER, F., J. HOFMANN und E. RENNER (1968):
Beeinflussung der Milchqualität durch Melkmaschinenschläuche.
Dtsch. MolK.-Ztg. 89, 851 - 861

KIND, H. (1978):
Diskussionsbeitrag anlässlich der Tagung der Deutschen Veterinär-
medizinischen Gesellschaft in Garmisch-Partenkirchen im Septem-
ber 1978.

KLEINSCHROTH, E., J. REICHMUTH und H. ZEIDLER (1969):
Zum Problem der Erfassung von Mastitiden durch quantitativ-zy-
tologische Untersuchung der Anlieferungsmilch.
Milchwiss. 24, 660 - 662

KRÜGER, L., G. ROEDER und J.K. HINRICHSSEN (1953):
Untersuchungen über die Einwirkung des Maschinenmelkens auf die
Milchgüte.
Milchwiss. 8, 150 - 153

KUNDRAT, W. (1966):
Psychrophile Bakterien in Milch und Milchprodukten.
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 160 - 172

KURZWEIL, R. und M. BUSSE (1973):
Keimgehalt und Florazusammensetzung der frischemolkenen Milch.
Milchwiss. 28, 427 - 431

LABOTS, H. und Th. E. GALESLOOT (1959):
Bildung von Flocken in der Rahmschicht pasteurisierter Milch.
Ned. Melk - en Zuiveltijdchr. 13, 73.
zit. nach: SCHÖNHERR, W. (1967).

LIMMER, H.-D. und R. WÖBBECKE (1972a):
Qualitätsprüfung der Anlieferungsmilch nach einer modifizierten
Ösen-Plattenmethode.
Dtsch. Milchwirtschaft 23, 1027 - 1031

LIMMER, H.-D. und R. WÖBBECKE (1972b):

Über die Keimzahl der von den Milcherzeugern abgelieferten Milch.
Dtsch. Milchwirtschaft 23, 1990 - 1994

MARTH, E.H. und W.C. FRAZIER (1957):

Bacteriology of milk held at farm bulk cooling tank temperatures.

I. Effect of time and temperature during storage, farm source of milk and season of year.

J. Milk Fd. Techn. 20, 72 - 78

MUVA Kempten (1976):

Jahresbericht 1976 des Milchw. Vereins Allgäu-Schwaben, 23 - 25.
zit. nach: HACKENSCHMIED, W. (1978).

MILLER, I. (1966):

Psychrotrophe Streptokokken.

Milchwiss. 21, 266 - 270

MOURGUES, R., L. VASSAL und J. AUCLAIR (1967):

Congrès int. Froid 12, 8 pp.

zit. nach: THOMAS, S.B. und B.F. THOMAS (1974).

MROZEK, H. (1969):

Milchflora und Reinigung auf dem Bauernhof.

Molk.-Ztg. Welt d. Milch 23, 319 - 322

DERSELBE (1972):

Milchgewinnungsbedingungen und Mikroflora der Milch.

Arch. Lebensmittelhyg. 23, 55 - 59

DERSELBE (1975):

Rohmilchqualität als Ergebnis der Behandlung der Melkanlagen.

Dtsch. Molk.-Ztg. 96, 258 - 261

NATIONAL MASTITIS COUNCIL, INC. (1969):

Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis.

University of New Hampshire Press, Washington, USA.

NEWBOULD, F.H.S.(1974):

Electronic counting of somatic cells in farm bulk tank milk,

J. Milk Fd. Techn. 37, 504 - 509

N. N. (1978):

Probenahme in Milchsammelwagen.

Dtsch. Milchwirtschaft 29, 485 - 489

PANES, J.J. und S.B. THOMAS (1968):

Psychrotrophic coli-aerogenes bacteria in refrigerated milk: A review.

J. Appl. Bact. 31, 420 - 425

PEARSON, J.K.L. und D.O. GREER (1974):

Beziehungen zwischen der Anzahl somatischer Zellen und bakteriellen Infektionen in der Milchdrüse.

Vet. Rec. 95, 252 - 257

ref.: Milchwiss. 30, 304

PETTE, J.W. (1961):

Milch- und Milchprodukte.

Wissenschaftliche Veröffentlichung der Dtsch. Ges. f. Ernährung,
Bd. 8, 70, Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt.

zit. nach: TERPLAN, G. und H.-U. WIESNER (1971).

PUNCH, J.D., J.C. OLSON und E.L. THOMAS (1965):

Psychrophilic bacteria III. Population levels associated with flavour or physical change in milk.

J. Dairy Sci. 48, 1179 - 1183

REICHMUTH, J. (1968):

Zum Einfluß subklinisch verlaufender Sekretionsstörungen und Mastitiden auf die Milchleistung von Kühen der Rasse "Deutsche Schwarz-bunte".

Vet. med. Diss., Berlin.

RENNER, E. (1968):

Zur Problematik einiger Untersuchungsmethoden für Rohmilch.
Dtsch. Molk.-Ztg. 89, 1223 - 1226 und 1261 - 1263

RENNER, E., O. KANDLER und F. KIERMEIER (1962a):

Melkmaschine und Milchqualität.

Dtsch. Molk.-Ztg. 83, 443 - 446

RENNER, E., O. KANDLER und F. KIERMEIER (1962b):

Einfluß der Silagefütterung auf die Qualität von Milch und Milchprodukten. I. Mitt.: Einfluß der Silagefütterung auf die bakteriologische Beschaffenheit von Milch.

Z. Lebensmitteluntersuch. u. Forsch. 117, 487 - 499

REUTER, H. und R. MEIER (1978):

Fehler automatischer Probenahmegeräte von Milchsammelwagen.
Milchwiss. 33, 216 - 220

RÖSCHKE, R. (1977):

Beziehungen zwischen mikrobiologisch-kulturellem Befund und Pyruvatgehalt der Trinkmilch in Berlin (West) unter besonderer Berücksichtigung der Psychrotrophenflora.

Vet. med. Diss., Berlin.

SCHLEGEL, H.G. (1972):

Allgemeine Mikrobiologie, 2. Auflage.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

SCHÖNHERR, W. (1959):

Untersuchungen über den Keim- und Staubgehalt der Luft in Massivbauställen und beim Weidemelken.

Milchwiss. 2, 50 - 56

SCHÖNHERR, W. (1967):

Tierärztliche Milchhygiene.

S. Hirzel Verlag, Leipzig.

SHARPE, A.N. (1973):

Automation and Instrumentation Developments for the Bacteriology Laboratory.

The society for applied bacteriology Technicals series No. 7.

Academic Press, London-New York.

SPRINGMEYER, W., R. LÜBENAU-NESTLE und F. BEYER (1976):

Zur Ermittlung der Rohmilchqualität. Bestimmung von Pyruvat und Laktat mit dem Autoanalyzer II.

Dtsch. Molk.-Ztg. 97, 1118 - 1133 und 1195 - 1198

STADHOUDERS, J. (1968):

Die Kühlung der Rohmilch unmittelbar nach ihrer Gewinnung als Hauptfaktor für die Einschränkung des Bakterienwachstums während der Lagerung bei 4°C.

Neth. Milk Dairy J. 22, 173 - 178

ref.: Milchwiss. 24, 302

STAHLHUT-KLIPP, H. (1975):

Zur Methodik der enzymatischen Pyruvat- und Laktatbestimmung aus Milch in der automatischen Durchflußanalyse.

Dtsch. Molk.-Ztg. 96, 622 - 626

DERSELBE (1977):

Erfahrungen über den praktischen Einsatz des Petrifoss-Biomatic-Systems zur Keimzahlbestimmung in Anlieferungsmilch.

Dtsch. Milchwirtschaft 15, 475 - 480

STELZER, K. (1973):

Zur Bestimmung somatischer Milchzellen mit der optischen Partikelzählung im Durchflußverfahren unter Berücksichtigung des mikroskopischen und elektronischen Zählverfahrens.

Vet. med. Diss., München.

SUHREN, G., W. HEESCHEN und A. TOLLE (1975):

Zur Messung des Verderbnisrisikos von Milch.

Milchwiss. 30, 473 - 475

DIESELBEN (1976):

Automatisierte und manuelle enzymatische Pyruvatbestimmung in der Milch.

Milchwiss. 31, 257 - 260

DIESELBEN (1978):

Pyruvat - Ein Parameter zur Erfassung der bakteriologischen Beschaffenheit von Milch.

Dtsch. Molk.-Ztg. 99, 520 - 526

SWARTLING, P. (1967):

Bull. Int. Dairy Fed. (3) 6.

zit. nach: THOMAS, S.B. und B.F. THOMAS (1974).

TERPLAN, G. (1966):

Maschineller Milchentzug und Milchqualität.

Dtsch. Molk.-Ztg. 87, 1090 - 1095

DERSELBE (1969):

Bakteriologische Probleme bei der Milcherzeugung.

Dtsch. Tierärztebl. 17, 589 - 594

TERPLAN, G., H.-U. WIESNER und H. HESSE (1969):

Zur Reinigung und Desinfektion von Rohrmelkanlagen. Der Effekt getrennter und kombinierter Verfahren bei von Hand und von Automaten gesteuerter Spülung.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 84 - 94

TERPLAN, G. und H.-U. WIESNER (1971):

Zur Beurteilung von Kuhställen im Hinblick auf die Hygiene der Milchgewinnung.

Arch. Lebensmittelhyg. 22, 158 - 159

TERPLAN, G. und H. H. GROVE (1977):

Persönliche Mitteilung.

TEWES, G. (1952):

Über Mängel der Reduktaseprobe für die Qualitätsbezahlung der Milch.
Dtsch. Molk.-Ztg. 73, 1457 - 1459

THOMAS, S.B. (1966):

Sources, incidence and significance of psychrophilic bacteria in milk.
Milchwiss. 21, 270 - 275

THOMAS, S.B., M. PHYLLIS, M. HOBSON und K. ELSON (1964):

The microflora of milking equipment cleansed by chemical methods.
J. Appl. Bact. 27, 15 - 26

THOMAS, S.B. und B.F. THOMAS (1974):

Psychrotrophe Bakterien in tiefgekühlter Tanksammelmilch.
Molk.-Ztg. Welt d. Milch 28, 101-102, 165-166, 189-190 und 245-249

THOMPSON, D.I., C.B. DONNELLY und L.A. BLACK (1960):

A plate loop method for determining viable counts of raw milk.
J. Milk Fd. Techn. 23, 167 - 171

TOLLE, A. (1973):

Pyruvat als zentrale Schlüsselsubstanz des bakteriellen Katabolismus in Milch.

Arch. Lebensmittelhyg. 24, 149 - 154

TOLLE, A., H. ZEIDLER und W. HEESCHEN (1966):

Zur Beurteilung der hygienischen Qualität der Anlieferungsmilch mit Hilfe neuer Methoden.
Milchwiss. 21, 757 - 763

TOLLE, A., H. ZEIDLER und W. HEESCHEN (1968):

Die elektronische Mikrokolonie-zählung. Ein Verfahren zur Beurteilung der bakteriologisch-hygienischen Qualität der Rohmilch.
Milchwiss. 23, 65 - 70

TOLLE, A., H. ZEIDLER, W. HEESCHEN, J. KRAACK und J. REICHMUTH (1968):

Untersuchung über somatische Zellen, saprophytäre Keime und anti-biotisch wirksame Hemmstoffe in der Rohmilch aus 12 Einzugsgebieten in der BRD.

Kieler milchw. Forsch. Ber. 20, 343 - 394

TOLLE, A., W. HEESCHEN, H. WERNERY, J. REICHMUTH und G. SUHREN (1972):

Die Pyruvatbestimmung - ein neuer Weg zur Messung der bakteriologischen Wertigkeit von Milch.

Milchwiss. 27, 343 - 352

UNGLAUB, W., E. LUBENOW und R. GERLACH (1978):

Die Zellgehalts- und Pyruvatbestimmung mittels Auto-Analyzer II, eine praktikable Routinemethode zur Beurteilung der Milchqualität?

Tierärztl. Umschau 33, 3 - 8

WERNERY, H. (1972):

Zur Beurteilung der bakteriologisch-hygienischen Wertigkeit von Milch durch die quantitative Bestimmung von Pyruvat und die Computer-Bild-Analyse von Plattenkulturen.

Vet. med. Diss., Berlin.

WIESNER, H.-U. (1975):

Zur Aussagekraft des Pyruvatgehaltes in Rohmilch beim Erzeuger.

Milchwiss. 30, 471 - 473

ZAADHOF, K.-J. und G. TERPLAN (1971):

Zur Eignung einiger Methoden für die Ermittlung der mikrobiologischen Qualität von Rohmilch.

Arch. Lebensmittelhyg. 22, 129 -131

DIESELBEN (1973):

Keimgehaltsbestimmung in der Rohmilch.

Dtsch. Milchwirtschaft 24, Beilage Lebensmittellabor 1/73, S. III-V

ZANDSTRA, T. und T.J. de VRIES (1977):

The pyruvate content in raw milk as an index of its bacteriological quality.

Neth. Milk Dairy J. 31, 109 - 119

ZEIDLER, H., A. TOLLE und W. HEESCHEN (1968):

Verbesserte Präparationstechnik zur elektronischen Bestimmung des Zellgehaltes in Milch.

Milchwiss. 23, 564 - 568

ZEIDLER, H., A. TOLLE, J. REICHMUTH und W. HEESCHEN (1969):

Über die Beziehungen des Zellgehaltes der Sammelmilch zur Mastitis-situation im Herkunftsbestand. I. Mitt.: Die Beeinflussung des Gehaltes an somatischen Zellen durch physiologische und pathologische Faktoren.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 193 - 195

Gesetze und Verordnungen

Milchgesetz vom 31.7.1930 i.d.F. vom 2.3.1974 (BGBl. I S. 469, 601).

Erste Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes vom 15.5.1931 i.d.F. vom 18.4.1975 (BGBl. I S. 967, 971).

Gesetz über den Verkehr mit Milch, Milcherzeugnissen und Fetten vom 28.2.1951 i.d.F. vom 23.6.1976 (BGBl. I S. 1608, 1612).

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. G. Terplan für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gewährte Anleitung sowie Unterstützung bei der Ausführung meiner Arbeit meinen Dank aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. H.-H. Grove für seine Beratung und Hilfe bei den Untersuchungen und bei der Durchsicht meiner Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich recht herzlich bedanken bei Herrn Dipl.-Math. Dr. K. Osterkorn für die Beratung bei den biomathematischen Berechnungen.

Für die stets gern gewährte Hilfeleistung bin ich allen Mitarbeitern des Lehrstuhls, insbesondere Frau Schäffer, dankbar.

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Untersuchungen wurden teilweise mit Sachmitteln eines Forschungsauftrages des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten durchgeführt.

Lebenslauf

Name : Georg Hartl

Geburtsdatum: 2.6.1946

Geburtsort: München

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Karl Hartl, Metzgermeister, gest. 26.2.1948
Anna Steinbacher, geb. Grübl

Familienstand: seit 24.11.1973 verheiratet mit Anna-Liisa
Hartl, geb. Liespuu
Tochter Monika Hartl, geb. 26.3.1976

Schulbildung: 1952-1956 Volksschule in Icking
1956-1965 Realgymnasium in Icking
1965 Reifeprüfung

Wehrdienst: 1965-1967

Studium: 1967-1972 Studium der Tiermedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität München
29.9.1972 Staatsexamen
15.11.1972 Bestallung als Tierarzt
seit Februar 1977 Anfertigen der Dissertation

Berufliche Tätigkeit: 1.12.1973 - 31.3.1975 Assistent bei
Dr. med. vet. M. Bachmann, Weilheim
1.1. - 15.11.1973 sowie
10.4.1975 - 31.1.1977 Assistent bei Tier-
arzt K. Habermann, Hilgertshausen

